

01965



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**CUANTIFICACION DE ESTEROIDES SEXUALES Y SU RELACION
CON LA CONDUCTA REPRODUCTIVA EN EL LOBO GRIS
MEXICANO (*Canis lupus baileyi*)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN PSICOBIOLOGIA**

P R E S E N T A

María de la Asunción Soto Alvarez

Director de Tesis: **Mtro. Alfonso Salgado Benítez**

Comité de tesis: **Dra. Gabriela Morali de la Brena
Dr. Miguel Angel Armella Villalpando**

Suplentes: **Dra. I. Yolanda del Río Portilla
Dr. Fructuoso Ayala Guerrero**



México, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mi mamá
(1912-2004)

Al poeta y futbolista,
a Felipe y Mercedes,
a Auru.

UN LOBO

Jorge Luis Borges

*Furtivo y gris en la penumbra última,
va dejando sus rastros en la margen
de este río sin nombre que ha saciado
la sed de su garganta y cuyas aguas
no repiten estrellas. Esta noche,
el lobo es una sombra que está sola
y que busca a la hembra y siente frío.
Es el último lobo de Inglaterra.
Odín y Thor lo saben. En su alta
casa de piedra un rey ha decidido
acabar con los lobos. Ya forjado
ha sido el fuerte hierro de tu muerte.
Lobo sajón, has engendrado en vano.
No basta ser cruel. Eres el último.
Mil años pasarán y un hombre viejo
Te soñará en América. De nada
puede servirte ese futuro sueño.
Hoy te cercan los hombres que siguieron
por la selva los rastros que dejaste,
furtivo y gris en la penumbra última.*

CONTENIDO

Agradecimientos	I
Resumen	II
Prólogo	III
Introducción	1
Origen	2
El lobo Mexicano (<i>Canis lupus baileyi</i>)	5
Estructura Social y conducta de los lobos	7
Conducta Sexual	9
Evolución de las conductas reproductivas	10
Conducta sexual femenina	13
Sustrato neural de la conducta sexual en mamíferos	15
Mecanismos sensoriales y conducta sexual	18
Conducta sexual en diversas especies	23
Conducta sexual en cánidos	26
Hormonas y conducta sexual	29
Hormonas esteroides	33
Objetivos	35
Material y métodos	36
Resultados	40
Discusión	55
Conclusiones	61
Anexo: La técnica de inmunoensayo enzimático	63
Bibliografía	66

AGRADECIMIENTOS:

Primero quiero agradecer a mi comité de tesis por la paciencia con que corrigieron mi trabajo. Al M. en C. Juan Arturo Rivera y al Dr. Fernando Gual Sill por las facilidades que dieron para trabajar en colaboración con la dirección general de zoológicos de la Cd. de México Además quisiera agradecer especialmente a la Dra. Gabriela Morali, al Dr. Jorge Servín, al Dr. Arturo Salame-Méndez, a la Dra. Alondra Castro Campillo, a la Bióloga Marina Hurtado, a los alumnos del seminario de Investigación de la licenciatura en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, al Subcomité Técnico Consultivo para la Conservación del Lobo Mexicano, a la Dirección General de Vida Silvestre de SEMARNAT, a Cheny Sánchez Castillo, Laura Koestinger, Alfredo Soto, Ma. Guadalupe Soto, al Dr. Victor Manuel Guerrero, al profesor Humberto Zepeda y todos aquellos que me ayudaron con el trabajo de investigación y el desarrollo de la tesis.

El presente trabajo forma parte del proyecto apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-2002-C01-0253).

II

RESUMEN

El lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) es una subespecie que originalmente habitaba en amplias regiones de la República Mexicana (Servín, 1993). Debido a intensos programas de exterminio y a la cacería ilimitada, actualmente se encuentra en peligro de extinción (Norma oficial mexicana NORM-059) y su población dentro de nuestro país es de menos de 100 individuos, todos ellos en cautiverio.

Existen algunos estudios acerca de su conducta, estructura social y período reproductivo (Bernal, 1989, Servín, 1991); hay muy escasos reportes sobre las hormonas esteroides sexuales (HES) (Esquivel-Lacroix y cols., 2001) y no hay reporte alguno sobre la relación de las hormonas sexuales y la conducta reproductiva.

Para poder explorar los patrones hormonales, tradicionalmente se han utilizado técnicas que requerían tomas de sangre y de orina. Cualquiera de estas técnicas requiere de un manejo intensivo de los animales, lo cual les provoca un intenso estrés y altera los resultados.

Técnicas no invasivas como la determinación de HES en heces fecales se han desarrollado recientemente. Estas técnicas permiten la descripción de los patrones hormonales asociados a la reproducción tanto en especies en cautiverio como en especies silvestres.

El objetivo del presente trabajo es: 1) Determinar las concentraciones de progesterona, testosterona y estradiol del lobo gris mexicano durante los meses de Enero a Abril; 2) Efectuar observaciones de la conducta sexual durante estos meses y 3) Establecer la relación entre el patrón hormonal obtenido en las cuantificaciones y la conducta sexual observada.

Los resultados muestran un patrón cíclico en la secreción de los esteroides sexuales, esto es, una serie de incrementos y decrementos en las concentraciones de cada una de las hormonas. Se encontró una relación directa entre la secreción de estradiol con la presentación de la conducta sexual de las hembras y una relación de los incrementos en la testosterona con la relación de la presentación de la conducta sexual masculina.

Este trabajo muestra también la necesidad de hacer este tipo de estudios con una frecuencia mayor en la toma de muestras fecales y hacer observaciones de conducta durante mayores períodos de tiempo, y sugiere que se mantenga a los animales en grupos de mayor tamaño de manera que puedan establecer sus jerarquías y relaciones sociales con una mayor semejanza a como las llevaban a cabo en libertad.

III

PROLOGO

Esta tesis contiene una introducción que divido en varias partes, primero hago un repaso evolutivo dónde incluyo desde el origen de los mamíferos y a partir de ahí de dónde se originaron los carnívoros y posteriormente el lobo, esto a manera de comprender quién es el lobo desde el punto de vista filogenético.

Después hago una descripción del lobo como un ser vivo, su forma de vida y las razones por las cuales ha llegado a estar casi a punto de desaparecer. Esta segunda parte es muy importante pues nos ayuda a conocer a un animal perseguido injustamente y que posee una gran inteligencia y un repertorio conductual riquísimo con una estructura social muy elaborada y una gran cantidad de conductas aprendidas lo que hace muy apasionante su estudio.

En la tercera parte en un intento de comprender la fisiología reproductiva, hago una revisión sobre la conducta sexual en diversas especies, la diversidad en la conducta reproductiva y posteriormente la determinación de las hormonas involucradas en cada una de las partes de la conducta sexual.

Por último, en el anexo, hago una breve revisión de las hormonas esteroides sexuales, su biosíntesis y estructura de manera de que se pueda comprender cómo son las hormonas cuantificadas en este trabajo.

INTRODUCCION

México se ha caracterizado por tener una gran variedad de especies de animales, muchas de las cuales están amenazadas, en peligro de extinción o bien extintas, como es el caso de grandes mamíferos carnívoros de México, quienes están desapareciendo rápidamente sin que se hayan adquirido conocimientos de su biología básica, incluyendo su fisiología y su conducta (Servín, 1993).

Uno de estos mamíferos es el Lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*), una de las 24 subespecies del Lobo gris de Norteamérica.

De esta subespecie se conoce muy poco, hay algunos trabajos acerca de su comportamiento y distribución (Servín, 1991, Bernal y Packard, 1989) McBride, 1980), pero nada acerca de su fisiología reproductiva y la relación de ésta con la conducta sexual.

El lobo contribuye de manera importante a la estabilidad de las comunidades naturales manteniendo un equilibrio entre la vegetación, los animales herbívoros y él mismo.

Otro valor del lobo, es la posibilidad de ser sujeto de investigación, así como las ratas han sido de gran ayuda para investigación en Psicología, el lobo podría ser de considerable interés para estudios de sociología y conducta; la investigación acerca de su habilidad para formar lazos emocionales, su estructura social, los complejos patrones de comunicación y expresión que tienen los grupos de lobos, darían muchos datos interesantes para estas disciplinas.

Por último, dada la necesidad de ayudar a su conservación ya que está en peligro de extinción, es muy importante obtener conocimientos de su biología reproductiva, por lo cual este trabajo es un inicio de lo que se puede desarrollar en este sentido. La relación entre las hormonas esteroideas sexuales y el comportamiento reproductivo del lobo abre la puerta para tener un mayor conocimiento de esta subespecie y así poder establecer un modelo para el estudio de las bases biológicas de la conducta reproductiva y al mismo tiempo colaborar en el desarrollo de técnicas que faciliten su reproducción.

ORIGEN

Los mamíferos se originaron de unos reptiles primitivos conocidos como los terápsidos durante el período triásico, hace unos doscientos millones de años. Estos reptiles eran carnívoros, tenían dientes diferenciados y patas adaptadas para correr; eran pequeños y desarrollaron pelaje y al parecer tenían gran capacidad de pasar inadvertidos, vivían en los árboles, eran nocturnos, comían insectos, plantas y tal vez huevos de reptiles de mayor tamaño. A fines del Cretácico y principios del Terciario se extinguieron muchos reptiles; los terápsidos se adaptaron a los nichos abandonados, y durante la era Cenozoica experimentaron radiación adaptativa, de modo que se distribuyeron ampliamente y se adaptaron a una amplia variedad de modos de vida ecológicos (Ville, 1998) (Fig 1).

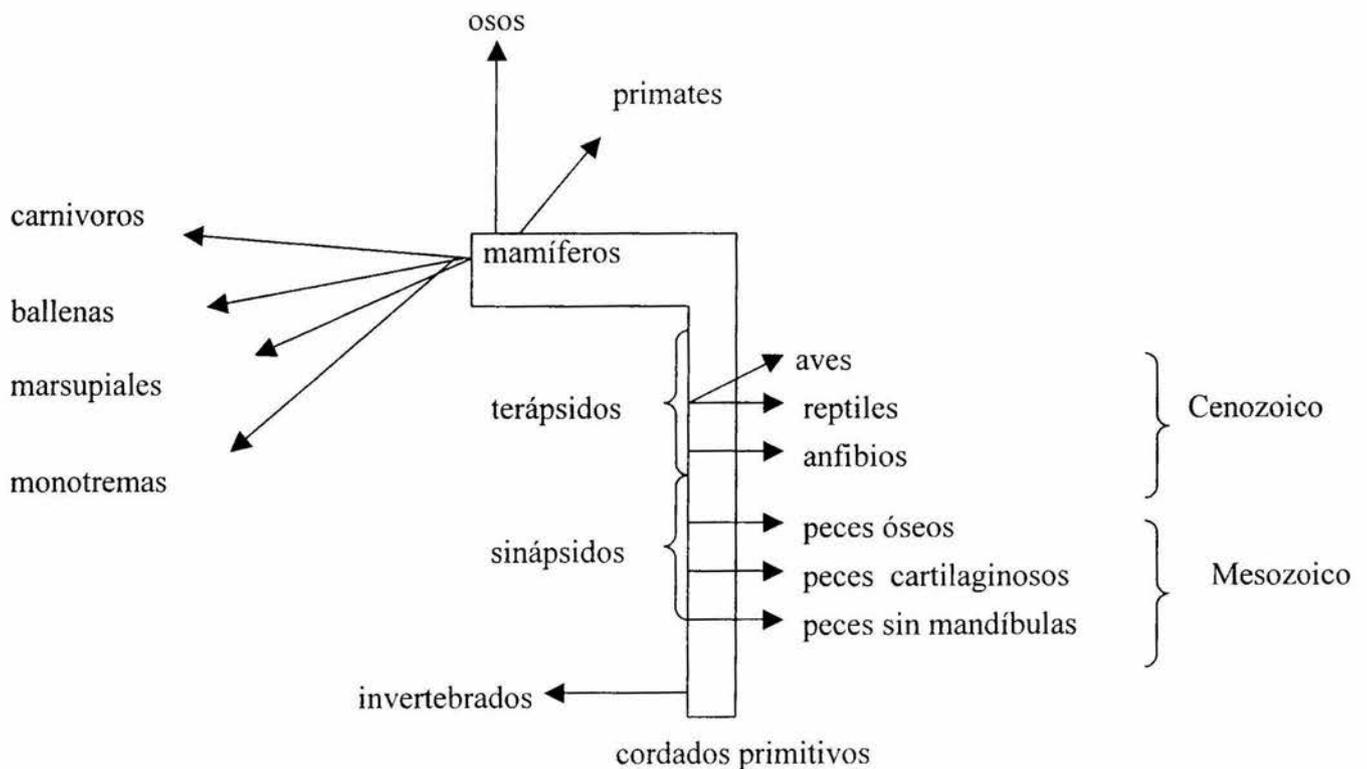
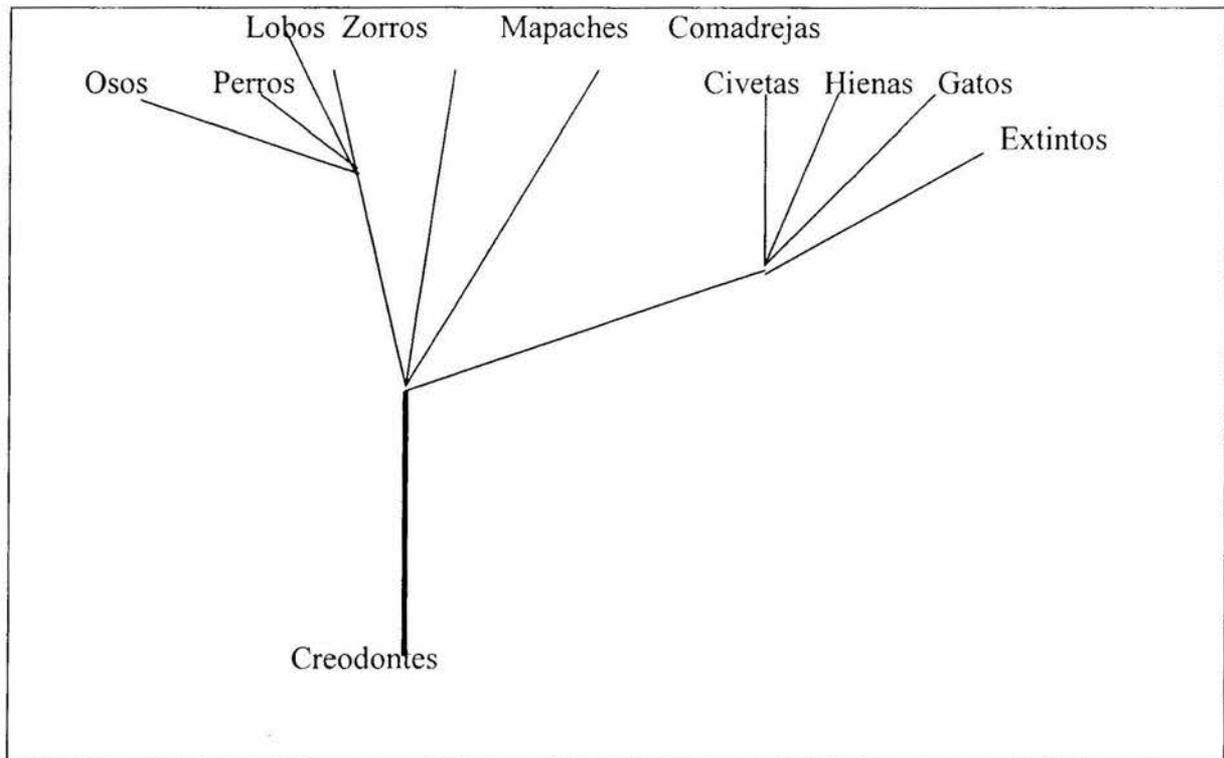


Fig.1 Origen de los mamíferos. Modificada de Ville (1998).

Los mamíferos placentarios más primitivos, eran insectívoros, y a partir de ellos florecieron diversos tipos de mamíferos. Los primeros animales pertenecientes a esta clase que comieron carne son conocidos como los creodontos, originarios del hemisferio norte. A partir de ellos se desarrollaron los miembros pertenecientes a la familia Miacidae de la cual se originaron todos los carnívoros actuales que incluyen a los osos, cánidos, felinos, mapaches, comadrejas, civetas, y hienas (Mech, 2000). Hace 30 o 40 millones de años unos miembros de la familia Miacidae, dieron origen a dos grupos, los *Cynodictis* y a los predecesores de los osos, hace 30 millones de años los *Cynodictis* dieron lugar a los *Cynodesmus* y a los *Tomarctus*; estos últimos dieron origen a los cánidos. (Fig .2).

Fig. 2. Origen del lobo. Modificada a partir de Mech. (2000)



El número de dientes es lo que distingue a los cánidos del resto de los carnívoros excepto los osos, ya que ambos grupos tienen 42 dientes. Con los osos existen otras diferencias muy importantes; por ejemplo, los cánidos caminan sobre sus dedos, que son cuatro en cada pata, y tienen colas largas; en cambio los osos caminan sobre las plantas de sus patas, tienen cinco dedos en cada pata, y tienen la cola corta.

La familia *Canidae* incluye catorce géneros vivos y cincuenta y seis géneros extintos (Walker, 1964 Citado en Mech, 2000); entre éstos, el género *Canis* incluye a los lobos (*Canis lupus*), a los perros (*Canis familiaris*), al coyote (*Canis latrans*), al chacal dorado (*Canis aureus*), al chacal lomo negro (*C. mesomelas*), al chacal listado (*Canis adustus*), al dingo (*Canis dingo*) y al lobo rojo (*Canis rufus*). De todos éstos, los parientes más cercanos del lobo, con los que puede haber confusión son el coyote, el perro y el lobo rojo (Mech, 2000), debido a la amplia similitud entre ellos y a que se reproducen con el lobo teniendo descendencia fértil.

EL LOBO MEXICANO (*Canis lupus baileyi*)

Del Suroeste de los Estados Unidos hasta la meseta central de México existieron cinco subespecies de lobo gris. Cuatro de ellas ya están extintas. La única subespecie que existe actualmente es la del lobo Mexicano (*Canis lupus baileyi*) (Grooms, 1999).

El Lobo Mexicano es el de menor talla entre los lobos que habitan en América y presenta varias diferencias con los lobos del Norte de los Estados Unidos y Canadá. Algunas diferencias son que el lobo Mexicano tiene el pelo más corto, las orejas más puntiagudas y una tendencia a un pelaje rubio (Servín, 1993).

El análisis de su DNA muestra que tiene un patrón genético único, razón por la cual se le considera una subespecie distinta a la del lobo gris (García-Moreno, 1996).

Originalmente los lobos se alimentaban de especies silvestres que habitaban en los bosques, como el venado cola blanca, pero cuando el hombre invadió los bosques y redujo las poblaciones de estas especies, el lobo comenzó a buscar alimento en las granjas, atacando a las ovejas, al ganado y a las aves de corral.

El lobo es el animal menos observado, menos comprendido y más perseguido de todos los mamíferos. Durante siglos, los europeos y los norteamericanos han creído que los lobos son feroces come-humanos, animales a los que hay que odiar, perseguir y destruir. Los primeros hombres al parecer no tenían estas creencias y su relación con los lobos era de competencia por las mismas presas; pero con el desarrollo de la ganadería las relaciones pacíficas cambiaron y el lobo comenzó a tener una pésima reputación. En algún momento los hombres comenzaron a ver a los lobos como representantes del demonio. Los primeros cristianos utilizaron el símbolo del lobo, como el animal que iba en contra de las ovejas del evangelio, y empezó a convertirse en una víctima del simbolismo religioso. El folklore de los pueblos, las fábulas y la literatura han mostrado el lado oscuro de este animal. Esto ha contribuido a una terrible persecución de los lobos a lo largo de todos los tiempos, logrando así la desaparición de varias subespecies y casi la extinción de otras.

En la década de los años 1950 los Estados Unidos y México crearon un programa para exterminar al Lobo mexicano, y repartieron el veneno llamado 1080 (monofluorato de Sodio) por las zonas donde habitaba este animal (Villa, 1960). Con ese programa casi se extermina la población de lobo mexicano, de puma y de oso. Los pocos lobos que

sobrevivieron a este programa en el Suroeste de los Estados Unidos fueron víctimas de cazadores en busca de una recompensa que ofrecía el gobierno de los Estados Unidos. A mediados de los años 1970, cuando se corría la voz de que un lobo había sido visto en las montañas de Arizona, los ganaderos se organizaban para matarlo por su temor a que este lobo fundara una nueva población de esta subespecie. En 1976 la asociación Norteamericana U.S. Fish and Wildlife Service (U.S.FWS) incluyó al Lobo mexicano en la lista de animales en peligro de extinción.

Actualmente no existe evidencia sólida de la existencia de por lo menos una población silvestre del Lobo mexicano. Los últimos reportes de lobos libres datan de principios de los años 80 en la sierra de Chihuahua, donde hubo reportes de ganado con mordidas al parecer hechas por lobos (Servin, 1993). A partir de entonces se inició un programa para la recuperación de esta subespecie; entonces, Roy T. McBride, un trampero de lobos, atrapó 5 lobos mexicanos en la Sierra de Durango, los cuales incluían una hembra preñada, y con ellos se buscó el reinicio de la reproducción de esa especie. Al mismo tiempo se analizó el DNA de supuestos lobos mexicanos mantenidos en el zoológico de San Juan de Aragón y en el Ghost Ranch de Arizona. Los resultados indicaron que ambos grupos eran de lobo mexicano puro, de modo que estos animales se incluyeron dentro del programa de recuperación, esto le dio una mayor diversidad a la estirpe. Los linajes de certificación fueron: Linaje McBride, linaje San Juan de Aragón y linaje Ghost Ranch.

El programa binacional para la recuperación del Lobo mexicano incluye la reproducción y más tarde la liberación de ejemplares en sitios estratégicamente planeados, sitios que deberán estar lejos de cría de ganado. Las comunidades rurales deben estar de acuerdo en aceptar la reintroducción de estos animales, de modo que se disminuya la posibilidad de que los maten.

La población actual del Lobo mexicano es de 281 individuos de los cuales sólo 90 se encuentran en la República Mexicana y todos ellos en cautiverio o semicautiverio (Siminsky 2003).

ESTRUCTURA SOCIAL Y CONDUCTA DE LOS LOBOS

Los lobos han sido descritos como extremadamente tímidos y con mucho temor hacia el hombre (Grooms, 1999) y al mismo tiempo como animales muy sociables entre ellos. Viven formando manadas, es decir, grupos organizados con jerarquías sociales muy bien establecidas (Mech, 2000; Servin 1991).

Se ha observado que desde que son cachorros los lobos presentan diferentes personalidades, aun siendo miembros de la misma camada y estas personalidades van a definir su posición dentro del grupo (Mech, 2000).

Las manadas consisten en una pareja dominante, llamada pareja Alfa. El resto de los lobos son los subordinados e incluyen a la camada de la pareja alfa y a los tíos y tías; ocasionalmente aceptan a un lobo que no es parte de la familia. La pareja alfa puede ser sustituida en algún momento por otra pareja más vigorosa; entonces el lobo viejo permanece en la camada pero con un rango social reducido (Mech, 2000).

A los lobos que tienen el rango social inmediatamente por debajo de la pareja Alfa se les llama lobos Beta; reemplazan a los individuos Alfa cuando éstos desaparecen, mueren o son muy viejos para ejercer el control de la manada. El lobo que se encuentra en el rango más bajo es el lobo omega y es el que tolera el abuso de los demás miembros (Allen, 1996).

Hay dos líneas de dominancia: la del macho Alfa que ejerce la dominancia sobre los machos y la de la hembra Alfa quien ejerce la dominancia sobre las hembras. La hembra Alfa es especialmente agresiva para defender su derecho de ser la única reproductora del grupo y no permite que otra hembra se acerque al macho alfa, pudiendo incluso matarla (Grooms, 1999). El macho Alfa es el líder que va a guiar al grupo para la cacería, decide rutas e inicia los ataques a las presas (Leopold, 1963, citado en Peterson, 1995). Los subalternos usualmente respetan los deseos de la pareja Alfa, pero si ven que uno de los miembros de la pareja Alfa abandona algún plan, entonces este miembro puede ser rechazado del grupo (Mech, 2000).

La personalidad del lobo cambia conforme crece y va tomando diferentes papeles dentro de su manada. Los líderes son decisivos y seguros de sí mismos.

Los subordinados son obsequiosos y leales al líder, algunos de los miembros de bajo rango son juguetones y atontados mezclando rasgos de la personalidad adulta con la de los cachorros. Cuando algún subordinado toma el *status* de miembro Alfa dentro de la manada, adquiere la personalidad propia de líder del grupo (Mech, 2000).

Para que un grupo funcione adecuadamente y se mantenga unido, necesitan vivir en una cooperación continua; cada animal asume el papel que le toca. Una manada de lobos se mantiene unida por lazos de afecto (Murie, 1944, citado en Grooms, 1999); son muy amistosos entre ellos y cooperan ampliamente unos con otros.

Los lobos de bajo rango actúan como niñeras mientras los padres van de cacería. Todos los miembros de la manada alimentan a las crías: cuando los cachorros tienen hambre, lamen los labios de uno de los adultos. Esto induce un reflejo y el adulto regurgita lo que acaba de comer para que a su vez lo coman los cachorros (Fig 3). Se ha reportado también en el lobo de Alaska que un lobo herido es alimentado por sus compañeros de manada (Grooms, 1999).

Son hostiles hacia otros lobos que no pertenecen a su manada. Pelean para evitar que otro lobo traspase su territorio y esta conducta se incrementa en caso de que haya escasez del alimento (Mech, 2000).

El número de miembros en las manadas varía según la subespecie. Los lobos de Alaska y Canadá tienen manadas de diez a veinte miembros, el Lobo Gris del Norte de los Estados Unidos tiene manadas de cinco a diez individuos; cuando se pudo observar en libertad el Lobo mexicano formaba manadas de dos a cinco miembros. Al parecer el tamaño de la manada está en relación al tamaño de presas que acostumbran cazar, así los lobos de Alaska y Canadá pueden mantener manadas numerosas ya que normalmente cazan animales tan grandes como un alce; mientras que el lobo mexicano vivía en grupos reducidos ya que normalmente se alimentaba del venado cola blanca y de piezas pequeñas como roedores y lagomorfos.

Los lobos se comunican entre sí mediante una combinación de vocalizaciones, posturas del cuerpo y olores. Los lobos ejecutan cuatro tipos de sonidos: un sonido grave que semeja a un ladrido, el gruñido, el gemido y el aullido, estos dos últimos los presentan en situaciones amistosas (Mech,



Fig.3 Familia de lobos del zoológico de Chapultepec. El macho Tasha está alimentando al lobezno (fotografía Marina Hurtado)

CONDUCTA SEXUAL

La conducta sexual es la conducta responsable de unir los gametos femenino y masculino para asegurar así la fertilización, durante la cual hay recambio genético que asegura la sobrevivencia de la especie, ya que este recambio da lugar a hijos con características genéticas distintas y por lo tanto los organismos tienen mayores probabilidades de sobrevivir en un ambiente variable; además, ante la presencia de depredadores, si éstos depredadores cambian, la variabilidad genética permitirá a las presas adaptarse al cambio (Hamilton y cols. 1981). Por último, la reproducción sexual tiene una ventaja adaptativa: cuando se recombina el material genético hay oportunidad de que se reparen posibles errores del DNA como rupturas en la regularidad estructural de la cadena (Bernstein y cols. 1985). El éxito reproductor es básico para la eficiencia biológica, las crías deben sobrevivir y, a su vez, reproducirse (Maier 2001). Estas crías también tendrán que competir con otros animales, que a su vez deberán transmitir sus genes a generaciones posteriores.

EVOLUCION DE LAS CONDUCTAS REPRODUCTIVAS

La reproducción, como todas las funciones de los organismos, ha presentado una larga evolución, ya que las diferentes condiciones ecológicas han generado una gran diversidad de pautas y estrategias reproductivas. En los primeros organismos vivos la reproducción de los organismos era asexual; esta reproducción es la que conservan formas unicelulares como protozoarios, esponjas, cnidarios y bacterias. (Maier, 2001)

Posteriormente aparecen organismos que presentan en ocasiones reproducción asexual y en otras reproducción sexual, como algunos moluscos, crustáceos, insectos y reptiles; éstos tienen normalmente reproducción sexual, pero en situaciones de estrés se reproducen por partenogénesis, es decir, cuando un óvulo no fecundado puede dar origen a un animal adulto. La reproducción sexual es la que predomina hoy en el reino animal, presentándose en moluscos, artrópodos y en todos los vertebrados. Este tipo de reproducción presenta una gran diversidad de patrones reproductivos.

Desde el punto de vista evolutivo, el estudio de la conducta sexual involucra el estudio de muchas generaciones de animales y de los cambios en cada una de las conductas específicas durante el curso de la selección natural. Las bases evolutivas de la conducta permiten aprender el porqué de la variación entre especies muy cercanas y entender cambios conductuales específicos que ocurren durante la evolución de nuevas especies. La conducta sexual es en sí misma un mecanismo de especiación que ayuda a la separación de grupos cercanos (Maier, 2001). Debido a que los fósiles no aportan datos acerca de la conducta, es necesario hacer estudios comparativos de las especies existentes (Nelson, 1995).

El cerebro es el órgano que más se ha diversificado y avanzado dentro del proceso evolutivo, esto ha dado lugar a que entre las especies animales exista una amplia variedad de conductas, (Bullock, 1984). Entre éstas, la conducta reproductiva representa un modelo adecuado para poder estudiar la interacción del sistema nervioso con otros sistemas como el sistema endocrino y los sistemas motores.

Para poder entender la conducta y los mecanismos que la regulan, es muy importante el análisis ecológico y evolutivo. El estudio de la diversidad puede dar otra perspectiva acerca

de los mecanismos causales y los componentes funcionales de las relaciones de las hormonas con la conducta (Crews 1992).

Al parecer, el desarrollo cerebral tiene una relación directa con la forma en que se ejecuta la cópula en los mamíferos. La mayoría de los animales copulan de forma estereotipada y Beach (1970) sugiere que los cerebros relativamente grandes y diferenciados se asocian con la capacidad de variar la postura en que se practica el coito; además, los mamíferos con mayor desarrollo cerebral presentan un incremento en las funciones asociadas al apareamiento, esto es, que en especies con cerebros relativamente pequeños, la cópula es exclusivamente reproductora y en primates que ya presentan mayor encefalización, la cópula ha adquirido funciones que no son únicamente reproductoras. Por ejemplo, es común que los monos bonobos (*Pan paniscus*) copulen cuando la hembra no es fértil y además, las hembras presentan interacciones sexuales que incluyen conductas homosexuales, como la estimulación sexual mutua. Estas conductas sirven al parecer como un modo de reducir las tensiones sexuales y afianzar los vínculos afiliativos entre los participantes (Kano, 1992 citado en Maier, 2001).

Al observar la gran variedad de formas reproductivas de los mamíferos se debe tomar en cuenta cómo pueden haber evolucionado estos procesos: en un principio, los gametos eran idénticos y la evolución hacia su diferenciación en óvulos y espermatozoides ocurrió en forma gradual, dando lugar a un gameto pequeño poco costoso y que utilizara su energía en desplazarse, y un gameto de mayor tamaño, con suficiente cantidad de nutrientes para alimentar al cigoto (Daly y Wilson, 1983 citado en Maier, 2001). También se presentó una evolución de los órganos sexuales: desde especies muy primitivas se observa el desarrollo de un pene en los machos y, en las hembras, de una cavidad especializada en la que el pene pudiera depositar su esperma (Maier, 2001). En algunos casos, los órganos sexuales masculinos y femeninos han evolucionado de tal modo que el órgano masculino permanece dentro de la cavidad sexual femenina durante más tiempo que en el resto de los animales y la pareja sigue acoplada incluso después de que el macho haya eyaculado; así dan tiempo suficiente para que el semen penetre en los órganos reproductores, y para que sea el esperma de ese macho el que fertilice a la hembra y no el de otro macho que llegue más tarde. Este sistema, llamado candado copulatorio, se ha descrito en algunos roedores como el ratón dorado (*Ochrotomys nutalli*), en perros (*Canis familiaris*) y en lobos (*Canis lupus*)

(Dewsbury, 1979). La evolución hacia una ovulación refleja o inducida se presenta en varias especies de lagomorfos como el conejo y la liebre y en algunos carnívoros como el gato (*Felis catus*) (Ramírez y Beyer, 1988). Cuando ocurre la estimulación perineal, olfativa, visual, auditiva y principalmente la estimulación vaginocervical durante la cópula, se provoca la liberación de la hormona luteinizante (LH) que a su vez induce la ovulación (Ramírez y Beyer, 1988). Esto asegura que la hembra quede gestante después de la cópula (Maier, 2001; Concannon, 1991).

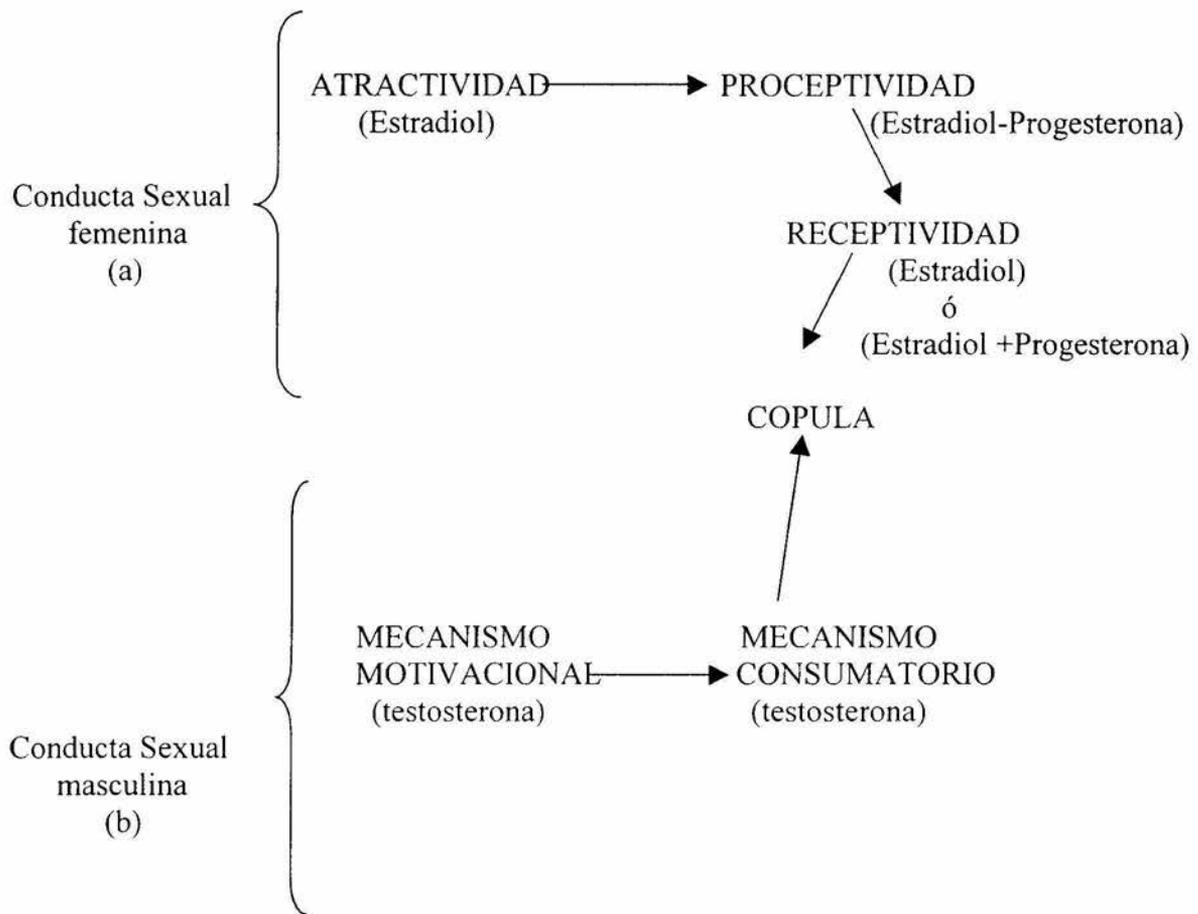


Fig.4. (a) En este esquema se muestra las etapas de la conducta sexual femenina y las hormonas responsables de cada una de estas etapas. b) Las 2 etapas de la conducta sexual masculina, ambas dependientes de la testosterona.

CONDUCTA SEXUAL FEMENINA

Beach (1976) propuso que en la hembra en estro se pueden reconocer tres características: Atractividad, Proceptividad y Receptividad. (Fig 4a)

ATRACTIVIDAD

Consiste en la calidad de estímulo que representa la hembra hacia el macho para inducir la presentación de la conducta copulatoria. Esta característica incluye cambios fisiológicos y morfológicos como cambios de color e hinchazón del área genital. Esto funciona como un estímulo visual para el macho (Beach, 1976; Asa, 1997)). Contribuye también la producción de sustancias odoríferas que emanan de la orina y de secreciones vaginales de la hembra en estro y que estimulan al macho, quien como en el caso del perro y del lobo, las huele y lame percibiéndolas desde antes de la ovulación (Beach y Merari, 1968, Rothman y Mech, 1979). Al parecer todos los cambios que sufren las hembras durante su ciclo ovárico y que contribuyen a la atractividad están bajo el control de los estrógenos (McGinnins y cols., 1981; Saayman, 1970 y Esquivel-Lacroix y Páramo, 2001)

PROCEPTIVIDAD

Esta segunda característica corresponde al componente motivacional de la conducta sexual de la hembra, que va propiciar el inicio a la cópula; las respuestas proceptivas corresponden al cortejo e incluyen un repertorio de reacciones de la hembra hacia el macho (Morali y Beyer, 1979). Estas respuestas funcionan como una oportunidad de comunicación; ahí la hembra expresa activamente su disposición para aparearse, con reacciones que varían según la especie. Con las respuestas proceptivas, las hembras solicitan activamente la cópula y son mucho más estimulantes para el macho que las que no solicitan aparearse, por lo que se ha sugerido que las conductas solicitantes propias de la proceptividad tienen un papel esencial en asegurar la reproducción (Erskine, 1989).

RECEPTIVIDAD

El término receptividad se refiere a la conducta realizada en la fase consumatoria del comportamiento sexual, es el grado de responsividad sexual de la hembra hacia su

pareja durante el apareamiento. Esta conducta consiste en la adopción por parte de la hembra de una postura que facilite la intromisión del pene del macho dentro de la vagina. La conducta sexual femenina ha sido ampliamente descrita en ratas (Beach, 1976; Morali y Beyer, 1979), conejos (Denenberg y cols., 1969), gatos (Whalen, 1963; Concannon, 1991), Cuyos (Young, 1969), aunque también hay algunos reportes en cánidos (Concannon, 1991) y algunos primates como chimpancés (*Pan troglodytes*) (Yerkes y Edler, 1936, citados en Nelson, 1995) y mono rhesus (*Macaca mulatta*) (Carpenter, 1942).

SUSTRATO NEURAL DE LA CONDUCTA SEXUAL EN MAMIFEROS

La conducta sexual de los machos es activada por un incremento en las concentraciones de los andrógenos de origen testicular; en las hembras, los estrógenos y la progesterona producidas por los ovarios regulan los períodos de receptividad sexual (Crews y Silver, 1992; Sachs y Meisel, 1988).

Tales esteroides van a actuar sobre diversas áreas del Sistema Nervioso Central, donde las neuronas contienen receptores específicos para cada una de estas hormonas; en tales áreas están los mecanismos celulares necesarios para integrar los estímulos endocrinos, sociales y ambientales.

Se han propuesto dos tipos de efectos de las hormonas sobre el Sistema Nervioso Central: un efecto organizacional, que se ejerce por la presencia de esteroides sexuales en la etapa perinatal sobre el sustrato neural organizando zonas cerebrales específicas, de modo que, tiempo después, durante la pubertad, cuando las gónadas entran en actividad, estas zonas respondan a la presencia de los esteroides sexuales, lo que correspondería al efecto activacional (Phoenix y cols. 1959).

Como otras conductas motivadas, la conducta sexual tiene dos componentes: un componente motivacional, que es el "sex drive", la libido, la fuerza que lleva a los individuos a buscar la unión sexual y un componente consumatorio. El componente motivacional incluye la conducta de cortejo que funciona como una oportunidad de comunicación durante la que se expresa el reconocimiento entre miembros de la misma especie, la disponibilidad para copular y la atracción de la pareja. El componente consumatorio, incluye a las respuestas que constituyen la cópula (Hinde, 1979, citado en Nelson, 1995) (Fig 4).

En base a experimentos realizados en roedores, efectuando lesiones o remociones de áreas cerebrales en animales intactos e implantes de hormonas en animales castrados, se ha podido establecer cuales son las áreas específicas para la integración de la conducta sexual. En diversos reportes se menciona el Area Preóptica media (APOm) y el hipotálamo anterior como los sitios principales donde se regula la conducta sexual masculina (Davidson, 1966; Christensen y Clemens, 1974). Esta área es un sitio crítico que integra, tanto la información

proveniente del medio ambiente como la información neuroendócrina, endócrina y neural necesarias para una cópula exitosa. Las lesiones efectuadas sobre esta región alteran el componente consumatorio sin afectar al motivacional (Ginton y Merari, 1977; Heimer y Larsson, 1965, citados en Nelson, 1995) además de que la administración de testosterona no restaura la conducta copulatoria en los animales lesionados. Al parecer otras áreas también están involucradas en la expresión de la conducta sexual masculina, aunque en menor medida. Estas áreas son el hipocampo, el hipotálamo ventromedial, el núcleo caudado (Sachs y Meisel, 1988)

Por otra parte se ha observado que la interacción social es muy importante en la integración de la conducta reproductiva masculina: ratas juveniles con lesiones en el APOm y mantenidas en aislamiento social, nunca copulan en la edad adulta; pero si las ratas juveniles lesionadas se mantienen en grupos heterosexuales sí copulan en la edad adulta a pesar de la lesión cerebral. Esto sugiere que la integración social puede actuar como un facilitador de la conducta sexual (Twiggs y cols., 1978) y prueba que las condiciones sociales en roedores actúan como mediadores de la plasticidad cerebral en la expresión de la conducta reproductiva después de una lesión cerebral importante (Nelson, 1996).

Diversos hallazgos en ratas sugieren que el núcleo ventromedial hipotalámico y sus vías aferentes y eferentes son elementos esenciales para la presentación de la conducta sexual femenina (Clark, 1985; Kennedy, 1964; Yamanouchi, 1980; y Emery y Moss, 1984). Se ha observado que el incremento en la concentración de estrógenos estimula la producción de receptores neuronales específicos para los mismos estrógenos y para la progesterona, que facilitan la expresión de la conducta sexual (Nelson, 1995).

Las áreas con una mayor concentración de estos receptores son el hipotálamo ventromedial, el área preóptica y varias estructuras límbicas (Pfaff y Conrad, 1978).

Pfaff y cols. (1994) proponen que varias subsecciones específicas del Sistema Nervioso funcionan juntas para mediar la respuesta de lordosis y que este conjunto de estructuras se encuentra a varios niveles. La médula espinal, -como se mencionará posteriormente- recibe información a partir de los receptores cutáneos durante la cópula; de ahí la información parte al tallo cerebral inferior donde se integra la información acerca de la postura y de la corrección de la misma a cada momento de la cópula. La información proveniente del aparato vestibular y de los propioceptores del cuerpo es necesaria durante

la cópula con el objeto de conservar una postura rígida y hacer correcciones para mantener el peso del macho encima (Nelson, 1995).

El mesencéfalo recibe información del hipotálamo y la traduce e integra de modo que pueda mediar los disparos neuronales de las células retículo espinales del tallo cerebral; en consecuencia, péptidos son transmitidos del hipotálamo a la área gris central del mesencéfalo, además de ser estimulado por esteroides sexuales en donde estas señales neuroendócrinas son traducidas a señales neurales. (Pfaff y cols., 1994)

Todas estas áreas están involucradas en la receptividad; solamente el hipotálamo ventromedial está involucrado tanto en la conducta receptiva como en la conducta proceptiva (Rubin y Barfield, 1983).

MECANISMOS SENSORIALES Y CONDUCTA SEXUAL.

OLFACION

Uno de los sentidos más importantes para la conducta sexual en mamíferos no primates y aún en primates es el sentido del olfato. Este sistema sensorial ha sido objeto de diversos estudios en roedores, ungulados y carnívoros. Se ha encontrado que los machos de estos grupos identifican el estro en las hembras en base a señales químicas sensoriales que son captadas por el epitelio olfatorio organizado en el órgano vomeronasal (también llamado órgano de Jacobson), que consiste en una estructura encapsulada a cada lado del septum nasal, localizado cerca del piso de la cavidad nasal (Moulton, 1967).

A partir de este órgano se forma el nervio vomeronasal o nervio terminal, que proyecta hacia la amígdala, localizada en los lóbulos temporales del cerebro; esta estructura tiene un papel crucial en la integración de la información sensorial importante para la presentación de la conducta sexual (Giantonio y cols., 1970).

Lesiones efectuadas en el núcleo corticomediale de la amígdala aumentan la latencia de eyacuación en la rata (Giantonio, 1970) y eliminan totalmente la cópula en hamsters (Lehman y Winans, 1982).

La amígdala proyecta hacia el hipotálamo vía la *stría terminalis* y es por ahí por donde probablemente pasa la información olfativa en roedores (Larsson, 1979).

En el caso del lobo, se sabe que la olfacción es de suma importancia para la cacería. Estos animales tienen la capacidad de seguir el rastro de una presa incluso días después de que ésta haya dejado el rastro (Asa y Mech, 1996). Además de la importancia para la cacería, el olfato es muy importante para la comunicación social; el marcaje con orina y heces es fundamental en la vida de los lobos (Rothman y Mech, 1979; Asa y cols., 1986; Asa y cols., 1990; Raymer y cols., 1984, 1986) y lo utilizan para reconocerse entre los miembros de la misma manada, para marcar su territorio, para detectar el estado reproductivo de las hembras, etc.

El sistema olfativo accesorio en lobos recibe señales provenientes del órgano vomeronasal, que al parecer está involucrado en la respuesta sexual (Estes 1972, citado en Asa y Mech, 1996; Scalia y Winans, 1975). Los cánidos presionan rápidamente la lengua contra el techo del hocico, justo detrás de los dientes frontales, donde los ductos

nasopalatinos se abren al sistema olfatorio (Asa, no publicado, citado en Asa y Mech, 1996). Las vías del órgano vomeronasal vía el bulbo olfatorio accesorio inervan áreas cerebrales involucradas en la conducta sexual como el hipotálamo, para dar como resultado la estimulación en la secreción de las gonadotrofinas (Asa y Mech, 1996). Asa y cols. (1986) cortaron el pedúnculo olfatorio en lobos con el objeto de obtener machos anósmicos y reportan que ninguno de estos machos mostró interés en la orina de las hembras tanto durante el proestro como en el estro. No la olieron ni ingirieron, ni la marcaron con orina; no mostraron interés en la región genital de estas hembras ni presentaron cópula, confirmando con esto la importancia del sistema olfativo en la conducta sexual de los lobos).

VISION

La información visual es utilizada por muchas especies para comunicarse. Esto puede incluir expresiones faciales, posturas del cuerpo y/o de las extremidades, patrones de color, abundancia en el plumaje o pelaje (Hailman, 1977, citado en Wingfield y cols., 1993). Las señales visuales pueden ser estáticas, como el color del plumaje por ejemplo, o dinámicas, como una señal que asociada a una conducta se utiliza intermitentemente (Maier, 2001). En el caso de los roedores, el movimiento rápido de las orejas y la carrera en zigzag efectuados por la hembra en estro son señales visuales hacia el macho (Moralí y Beyer, 1979). En los primates es común el lenguaje facial (Ver conducta sexual en el mono Rhesus pag. 24). En los cánidos, aunque se ha reportado que el sentido de la visión en el perro es el sentido menos desarrollado, hay reportes de que para los lobos la visión es muy importante para localizar una presa y probablemente la pareja que es al menos tan aguda como la de los humanos (Mech, 1988 citado en Asa y Mech, 1996). Se ha demostrado que los cánidos tienen en la retina una estructura llamada *tapetum lucidum* que aumenta la sensibilidad visual en la oscuridad (Walls, 1942 citado en Asa y Mech, 1996) y que es mucho más abundante la presencia de bastones que de conos lo cual les ayuda a tener una buena visión nocturna.

Se sabe que los perros pueden distinguir algunos colores como el rojo, el amarillo, el azul, y el verde (Rosengreen, 1969, citado en Asa y Mech, 1996). Por su parte, Asa ha efectuado pruebas preliminares con lobos cautivos y ha encontrado que estos animales

pueden distinguir colores con relevancia biológica como el rojo (sangre) y amarillo (marcaje de orina) (Asa y Mech, 1996). Esto puede tener una relación con la reproducción, ya que los genitales de las hembras presentan cambios de color como el enrojecimiento de la vulva y el sangrado a partir del proestro.

Por otro lado, los movimientos de la cola en los lobos implican un lenguaje muy importante en la comunicación entre los miembros de una manada. La cola por encima del lomo significa que es un animal dominante, la cola baja es signo de sumisión, la desviación de la cola hacia un lado por parte de la hembra solamente ocurre durante la receptividad y todos estos movimientos son observados por otros lobos (Mech, 2000).

AUDICION

En algunas especies el sistema auditivo es muy importante para la reproducción. En los gatos, las hembras en celo presentan unos maullidos característicos que funcionan para llamar al macho (Michael, 1979). Los roedores emiten sonidos ultrasónicos durante el apareamiento (Barfield y Geyer, 1975). En el caso de los cánidos al parecer no hay aún un acuerdo sobre el papel de la audición en la reproducción. En 1967, Joslin (citado en Mech, 2000) efectuó un estudio sobre la frecuencia de los aullidos de los lobos localizados en Canadá en diferentes épocas del año y reportó que las hembras alfa durante el estro emiten un sonido suave cuando presentan los genitales al macho, pero es un sonido que difícilmente se escucha a distancia.

Un hecho notable es la capacidad auditiva en este grupo, ya que la utilizan frecuentemente para comunicarse entre los miembros de una manada y también con miembros de manadas cercanas (Mech, 2000).

La percepción del sonido ha sido estudiada en varios miembros de los cánidos. Por ejemplo en el coyote (*Canis latrans*), se ha observado que el límite superior de audición son 80kHz. Para la zorra roja (*Vulpes vulpes*) es de 65kHz., y para el perro (*Canis familiaris*) es de 60kHz. Para el lobo se calcula en 80kHz. (Spector, 1956, citado en Asa y Mech, 1996). Como una comparación, en el humano el límite superior de audición es de 20kHz y en el chimpancé, de 33kHz. La distancia a la que un lobo es capaz de escuchar el aullido de otro lobo es aproximadamente de 6.4 a 9.6 kms. (Harrington y Mech 1979 citado en Asa y Mech, 1996).

INFORMACION CUTANEA

Los estudios sobre la información cutánea durante el apareamiento se han llevado a cabo principalmente en roedores. En las hembras de estos grupos, la información sensorial cutánea es captada por el sistema nervioso central durante el apareamiento, vía receptores cutáneos de los flancos y del perineo, que informan a las neuronas sensoriales bipolares que entran a la médula espinal; los estímulos son enviados a la formación reticular medular (Pfaff y cols., 1994), en donde los campos receptivos de las neuronas sensoriales en la piel aumentan su tamaño en ratas tratadas con estrógenos (Kow y cols. 1979). Esta área a su vez está conectada con estructuras del tallo cerebral, las cuales bajo la influencia de esteroides sexuales participan junto con el núcleo ventromedial hipotalámico en la integración de los reflejos motores característicos de la receptividad.

En los machos, la presencia de papilas córneas en el pene al parecer está relacionada con un incremento de la sensibilidad durante la cópula. Los trabajos iniciales fueron efectuados por Beach y Levinson (1950), que describen la presencia de terminales nerviosas libres en la base de las papilas del glande de las ratas y sugieren que el movimiento de estas papilas durante la intromisión estimula a las terminales nerviosas (Johnson y Halata, 1991). La actividad neural resultante durante la intromisión podría contribuir a la excitación eyaculatoria (Meisel y Sachs, 1994). Por otra parte, estudios electrofisiológicos en diversas especies demuestran la presencia de dos tipos de mecanorreceptores: los localizados en el área distal, cuya función es transmitir acerca del movimiento de la piel, presión y grado de la erección (Johnson y cols., 1986) y los receptores concentrados en el área proximal que son los que envían la información necesaria para incrementar la excitación sexual del macho; las espinas del pene contribuyen a esta excitación (Beach y Levinson, 1950, Aronson, 1968). En los gatos también se presentan espinas córneas en el pene, al parecer también involucradas en el aumento de la sensibilidad durante la cópula (Cooper y Aronson, 1974).

Estudios en los que se ha efectuado la transección del nervio peneano dorsal en roedores (Sachs y cols., 1980 citado en Sachs y Meisel, 1988), han demostrado la importancia del nervio pudiendo -del cual se origina el nervio peneano dorsal- en la conducta sexual, ya que

al cortarlo se disminuye la frecuencia de intromisión y por lo tanto influye en la eyaculación.

En los perros, la inervación del pene proviene del plexo sacro, vía nervios pares pudendos y pélvicos. El nervio pudendo dorsal inerva al pene y provee inervación sensorial del glande, así como también la inervación perineal y motora de los músculos retractores del pene.

Los nervios pélvicos aportan la inervación sensorial y visceral a la porción intrapélvica del conducto urogenital, y los nervios hipogástricos son los responsables de la eyaculación y de la secreción prostática (Jones y Josua, 1984).

CONDUCTA SEXUAL EN DIVERSAS ESPECIES

Este subcapítulo es importante porque en él se describe la conducta sexual en algunos mamíferos que pertenecen a diferentes órdenes, pero siguiendo un orden filogenético: desde los roedores y lagomorfos hasta los primates. Hay diferencias importantes como el desarrollo de conductas más elaboradas y una menor dependencia de la conducta sexual con respecto a las hormonas gonadales.

Como se mencionó en la página 15, la conducta sexual tiene dos componentes: un componente motivacional que corresponde al cortejo y un componente consumatorio que incluye las respuestas que constituyen la cópula.

En la rata (*Rattus norvegicus*), durante el estro, la hembra se acerca al macho presenta movimientos rápidos de las orejas; luego se aleja de él, vuelve a acercarse dando saltos y vuelve a alejarse; ejecuta carreras zigzagueantes y mueve la cabeza rápidamente (Moralí y Beyer, 1979). Esta conducta proceptiva, como se mencionó anteriormente, estimula al macho. Cuando el macho monta a la hembra, ésta presenta la posición de lordosis, que es un arqueamiento de la columna vertebral, con desviación de la cola para facilitar la intromisión del pene (Beach, 1976). El macho presenta, al igual que en otras especies de roedores: 1) Montas, 2) Intromisiones y 3) Eyaculación. Poco después de que la pareja se encuentra reunida, el macho es estimulado por la hembra y él responde persiguiéndola, investigándola, oliendo la región anogenital, y entonces la monta, puede presentarse monta sin intromisión, con una serie de movimientos pélvicos rítmicos; la hembra presenta lordosis, el macho la desmonta lentamente, la persigue por unos segundos y vuelve a montarla. En algunas montas se observa que luego de una serie de movimientos pélvicos rítmicos, se presenta un sólo movimiento pélvico más profundo que significa que hubo inserción del pene, patrón conductual conocido como “intromisión”, durante el cual no hay transferencia de semen, el macho desmonta rápidamente por detrás a la hembra y presenta acicalamiento de los genitales. Después de una o varias intromisiones el macho eyacula, con un movimiento pélvico más profundo y prolongado que los demás. Posteriormente el macho emite unas vocalizaciones ultrasónicas características, presenta de nuevo acicalamiento de genitales y se queda inactivo por varios minutos (Dewsbury, 1979).

Los gatos presentan vocalizaciones sexuales, que son maullidos muy prolongados. El macho se aproxima a la hembra y ella adopta una postura estereotipada que consiste en bajar las patas delanteras y la cabeza, curvar la espalda, presentar la lordosis y levantar el perineo desviando la cola para exponer la región genital (Whalen, 1963). Al montarla el macho sujeta a la hembra del cuello con los dientes y efectúa una serie de movimientos pélvicos extravaginales. Cuando logra llevar a cabo la intromisión presenta un solo movimiento pélvico y es cuando el gato eyacula. Durante la intromisión, la hembra da un maullido estruendoso, se levanta sobre sus patas delanteras y derriba al macho, entonces rueda hacia un lado y otro, se frota y lame su cuerpo (Michael, 1979).

En el chimpancé (*Pan troglodytus*) se ha reportado (Yerkes y Edler, 1936 citado en Carpenter, 1942)) que el inicio de la cópula depende del macho, que busca a la hembra y le hace gestos faciales y adopta posturas determinadas. Si la hembra está en estro, le hace caso de inmediato, corre rápidamente hacia él y se acuesta sobre el piso con las patas flexionadas y dirigiéndole los genitales. La postura de la hembra durante la cópula es altamente estereotipada, encontrándose muy poca variación entre las hembras.

En el mono rhesus (*Macaca mulatta*), la hembra rara vez interacciona con el macho si no es para iniciar el apareamiento. En 1984 Wallen y cols. reportaron en un estudio que más del 80% de toda la interacción social entre machos y hembras de una colonia de monos Rhesus era iniciada por las hembras antes de la conducta copulatoria. Una de las características en esta especie es la presentación de los genitales de la hembra al macho, la ejecución de un patrón de movimientos faciales con movimientos rítmicos de los labios; las hembras elevan las cejas y proyectan el hocico (Carpenter, 1942). Además las hembras emiten vocalizaciones que están solicitando la cópula. El macho y la hembra presentan acicalamiento mutuo entre una serie de montas e intromisiones (Michael, 1967). Es importante hacer notar que la mona Rhesus (*Macaca mulatta*) muestra receptividad al macho durante todo el ciclo menstrual y no sólo durante la etapa periovulatoria, aunque sí se incrementa la frecuencia de cópula durante este período (Michael y Bonsall, 1979).

En las mujeres también se presenta la cópula a todo lo largo del ciclo menstrual, no específicamente durante la ovulación, aunque hay reportes de que la libido aumenta durante este período (Adams y cols., 1978; Udry y Morris, 1968, citados en Nelson R. 1995). Existen numerosos reportes acerca de la conducta sexual en humanos, desde los años 40

con Kinsey, quien fue el iniciador de la investigación de este tema basándose en interrogatorios. Posteriormente, Masters y Johnson (1978) efectuaron los primeros estudios fisiológicos y postularon una división del ciclo de la respuesta sexual humana, que consta de cuatro fases: 1) Fase de excitación, de gran importancia para producir un aumento en la tensión sexual durante el ciclo y que se desarrolla a partir de la estimulación somatogénica o psicogénica. 2) Fase de meseta, sigue a la fase de excitación siempre y cuando se mantenga una estimulación efectiva: en esta fase, la tensión sexual llega al máximo y su duración depende de la efectividad del estímulo y el factor de canalización individual para la culminación del incremento de la tensión sexual. 3) Fase de orgasmo. Esta fase se presenta cuando la tensión sexual llegó al máximo en la fase de meseta y el estímulo fue el adecuado. Esta fase dura unos cuantos segundos y es cuando se liberan la vaso congestión y la miotonía desarrolladas por el estímulo sexual. 4) Fase de resolución. Esta última fase consiste en la pérdida de la tensión sexual y lleva a un estado de inexcitabilidad. Esta fase en el hombre incluye un período refractario donde no hay respuesta a la estimulación, pero en la mujer no se presenta este período refractario.

CONDUCTA SEXUAL EN CANIDOS

Al igual que los primates, los cánidos presentan selectividad sexual (LeBoeuf, 1967). Una hembra en estro no va a aparearse con un macho que no sea el que ella elija, independientemente de su rango dentro de la camada (Beach y LeBoeuf, 1967). Ellas se dirigen al macho que escogieron, que a su vez se va a sentir atraído por la hembra debido a los olores que ella emana durante el estro (Beach y Gilmore, 1949).

Las fases del ciclo ovulatorio en las hembras de los cánidos incluyen cuatro fases que son:

Proestro: Fase que precede al estro, durante este período la hembra es atractiva al macho pero no está aún receptiva, las hembras presentan una secreción sanguinolenta en la vulva que se da como resultado al incremento en la concentración de los estrógenos.

Fase de estro: Es cuando la hembra presenta la receptividad y la ovulación.

Fase Lútea o pseudogestación: Es la fase que se presenta posterior al estro, caracterizada por elevadas concentraciones en la progesterona, en las hembras de los cánidos se considera como una condición de pseudogestación ya que puede durar la misma cantidad de tiempo que una verdadera gestación y,

Anestro: Período de quiescencia reproductiva que separa las estaciones de reproducción.

Las hembras de los cánidos presentan ciclos monoestrales, caracterizados por un solo período de estro durante la estación reproductiva, lo que significa que sólo tienen una oportunidad para concebir en este período, el estro es seguido por la fase lútea y si ocurrió la fertilización, estará seguido por la gestación o si no hubo fertilización entonces seguirá un período de anestro prolongado. El número de períodos reproductivos que las hembras tengan al año va a determinar la duración del anestro, en las perras, que tienen 2 ciclos ováricos al año el anestro es más corto; en cambio la loba de zonas templadas tiene sólo un ciclo ovárico por año, durante el invierno, con mayor incidencia entre fines de enero y fines de marzo (Asa, 1999, Servín, 1999) por lo tanto presenta un anestro de mayor duración.

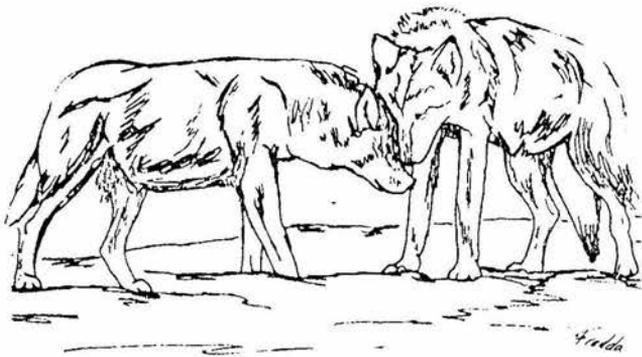
En el lobo se ha reportado que las parejas comienzan a presentar conductas que actúan como “mensajes sexuales” con el objeto de sincronizar sus fisiologías reproductivas, para asegurar su “unión” y para suprimir la reproducción de otros miembros de la manada (Mech y cols., 1978 citado en Peters, R. 1980). Desde mediados de octubre, en lobos que habitan en Norteamérica, la pareja comienza a ejecutar mensajes sexuales más intensos que

en el resto del año, empujan hocico con hocico, luchan suavemente con las mandíbulas y se frotan mutuamente con la cabeza y el cuello (Fig 5-a) (Shenkel, 1947 citado en Peters, 1980). Algunas formas afiliativas como el olfateo aumentan en frecuencia, especialmente entre machos y hembras (Fig 5.b) (Peters, 1980).

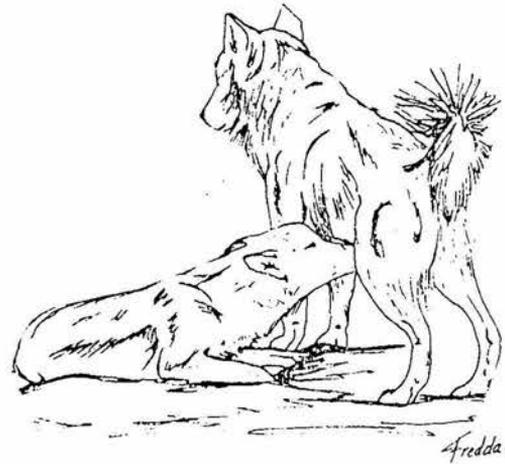
Durante el proestro, la hembra se vuelve muy atractiva al macho pero aún no presenta receptividad. La duración es diferente para las hembras de los cánidos: en el lobo dura 6 semanas (Servín, 1997), en el coyote 2 a 3 meses (Kenelly y Johns, 1976), y en la perra (*Canis familiaris*) 1 semana (Asa, 1999). Durante esta etapa, hay un incremento de la conducta de cortejo, en la que se observa un marcaje mutuo con orina. La hembra orina primero, el macho olfatea y lame esa orina y luego orina encima de ésta (Servín, 1991) Durante esta etapa es cuando el macho advierte ya un olor en los genitales de la hembra, debido a secreciones de la vulva y a una descarga sanguinolenta de la vagina que anuncia que la llegada del estro está próxima (Asa, 1999). Estos olores hacen a las hembras muy atractivas al macho y lo estimulan de manera muy importante durante la etapa reproductiva (Donovan, 1967, citado en Peters, 1980; Raymer y cols. 1986). El macho huele ya intensamente los genitales de la hembra y, si ella es de alto rango, responde a estas investigaciones quedándose parada y desviando la cola (Fig. 5-c). Las hembras de bajo rango se alejan y no permiten las investigaciones del macho (Peters, 1980).

La receptividad de la hembra se presenta en la etapa del estro, que en la mayoría de los cánidos dura alrededor de una semana (Asa, 1999). En los perros y en los lobos hay reportes de que cuando se encuentran un macho y una hembra en estro y hay atracción, la hembra orienta sus cuartos traseros hacia el hocico del macho y desvía la cola. El macho olfatea y lame su vulva, (Fig.5-d) algunas veces tan vigorosamente que levanta las patas traseras de la hembra del piso (Beach y Leboeuf, 1967). Posteriormente el macho monta a la hembra (Fig.5-e) y presiona su pene semierecto contra la vagina, la hembra lo auxilia haciéndose para atrás y cambiando ligeramente su posición para facilitar la intromisión. Una vez que el pene está dentro, el macho presenta la erección completa (Fig.5-f). Entonces ejecuta movimientos pélvicos, eyacula y desmonta. Los dos animales quedan unidos por el pene dentro de la vagina durante el establecimiento de un candado copulatorio (ver Evolución de conducta reproductiva página 12) (Nelson, 1995). La eyaculación de los perros dura de 1 a 20 minutos y se da en tres fracciones. La primera, llamada

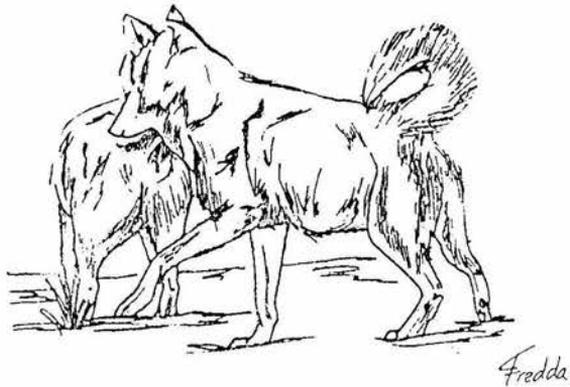
prespermática, es una eyaculación de bajo volumen con pocos espermatozoides y se presenta durante los primeros movimientos pélvicos e intentos de intromisión. La segunda fracción es rica en esperma y se expulsa durante la intromisión. La tercera fracción ocurre en la etapa conductual más prolongada, puede durar hasta 45 minutos y presenta pocos espermatozoides. Esta última fracción se expulsa durante el candado (Christiansen 1984; Morton y Bruce, 1989; citados en Concannon, 1991).



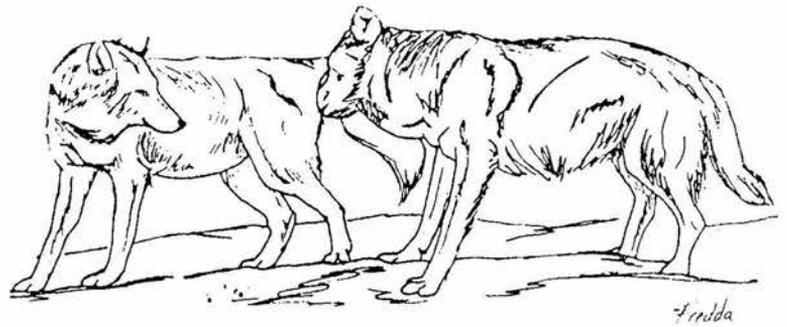
a) Contacto hocico-hocico



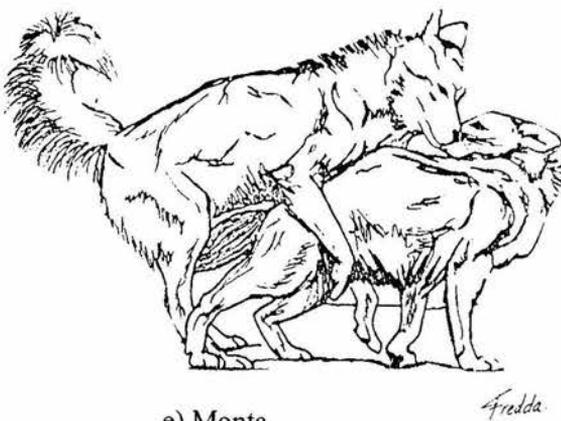
b) Olfateo de genitales



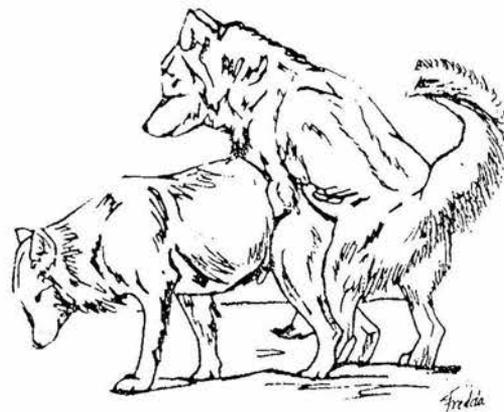
c) Presentación de genitales



d) Lamida de genitales



e) Monta



f) Cópula

Fig.5 Diferentes etapas de la conducta sexual en una pareja de lobos (Servín, 1991)
Reproducción de la figura con autorización del Dr. Jorge Servín.

HORMONAS Y CONDUCTA SEXUAL

Frank A. Beach, (1948) y William C. Young (1961) (Citados en Pfaff y cols., 1994) describieron la dependencia de la conducta sexual con respecto a las hormonas esteroides. A partir de una serie de trabajos experimentales que incluían la remoción de las gónadas, la restitución hormonal y la observación de reproducción estacional, ellos concluyeron que los esteroides gonadales facilitan la conducta reproductiva en los vertebrados.

En animales de laboratorio se ha probado que la presentación y mantenimiento de las conductas motivacional y consumatoria del comportamiento sexual requieren de la presencia de los esteroides sexuales.

En la expresión de la conducta sexual, participan tres componentes: 1) Los sistemas sensoriales que llevan la información de los estímulos externos al interior del organismo. 2) El Sistema Nervioso Central que integra esta información con la información del medio interno. 3) Los sistemas efectores, encargados de llevar a cabo la respuesta (sistema muscular, sistema glandular y sistema nervioso autónomo). Las hormonas sexuales influyen sobre estos tres sistemas básicos para que una conducta particular sea emitida en la situación apropiada (Nelson,1995). Dentro del Sistema Nervioso Central existen receptores a los esteroides sexuales, que son proteínas sintetizadas en respuesta al aumento en las concentraciones de los esteroides gonadales.

En las hembras, a partir de la pubertad la adenohipófisis comienza a secretar en mayor concentración unas hormonas proteicas conocidas como las gonadotrofinas, que incluyen a la hormona Folículo Estimulante (FSH) y a la Hormona Luteinizante (LH). La FSH actúa sobre el ovario; ahí estimula el desarrollo folicular y la secreción de esteroides sexuales, principalmente estrógenos y en menor proporción progesterona. La LH también está involucrada en la producción de esteroides foliculares y además, provoca la ruptura del folículo de modo que se libere el óvulo y se secreten entonces concentraciones elevadas de progesterona, la responsable de mantener la gestación al menos en sus etapas iniciales.

El incremento de estrógenos y, en algunas especies, de progesterona se ha relacionado con la presentación de la conducta sexual femenina.

Los estrógenos son los responsables de la presencia de rasgos específicos de las hembras en estro; estos rasgos son la tumescencia labial, la hinchazón y el enrojecimiento del perineo y la descarga sanguinolenta en las hembras de los cánidos (Beach y LeBoef, 1967; McGinnis y cols. 1973; Kummer, 1971, citado en Beach, 1976; Saayman, 1972; Asa 1996 y Esquivel-Lacroix, 2001). También se ha reportado que la progesterona incrementa la atraktividad en ratas previamente tratadas con estrógenos (Carr, y cols., 1965) y al parecer también regula las conductas proceptivas (Beach, 1970).

Después de la ovulación, el cuerpo lúteo secreta elevadas cantidades de progesterona, aunque también se ha reportado que las células intersticiales del ovario secretan progesterona antes de la ovulación en la mona Rhesus (Resko y cols., 1975) en la perra (Concannon y cols.,1975), y en el cuyo (Joshi y cols.,1973). Algunos autores sugieren que esta hormona está involucrada en la presentación de las conductas proceptivas (Beach y Merari, 1970; y Glaser y cols. 1983).

La receptividad en las hembras se presenta en respuesta al incremento de los esteroides ováricos, aunque la presencia y secuencia de estos esteroides varían entre las diferentes especies. Por ejemplo, los estrógenos por sí solos estimulan la conducta sexual en algunas especies, entre otras: en la coneja (Beyer y McDonald, 1975), la gata (Peretz, 1968), la yegua (Asa y cols., 1984) y el babuino hembra (Saayman,1972). Pero en otros grupos, la progesterona sinergiza con la acción de los estrógenos para facilitar la conducta sexual de las hembras: es el caso de la rata (Powers, 1970), el hamster (Ciaccio y Lisk, 1971) y el cobayo (Joslyn y cols., 1971). En la yegua aunque los estrógenos por sí solos facilitan la conducta sexual, la administración de progesterona intensifica la respuesta (Asa, 1984).

En cánidos como el perro (*Canis familiaris*) (Concannon, 1991) y la zorra fennec (*vulpes cerda*) (Valdespino y cols. 2002) se reporta que la etapa de proestro depende únicamente de los estrógenos, pero que un incremento en la progesterona paralelo a una disminución en los estrógenos es necesario para la estimulación de la receptividad y de la ejecución de la cópula (Asa, 1999). La ovulación en las perras puede ocurrir desde un día antes hasta 5 días después del momento de la conducta de estro.

El estradiol presenta un pico de 62 a 68 horas antes de la ovulación y la progesterona comienza a incrementarse 38 a 44 horas antes de la ovulación, poco antes o simultáneamente al pico de LH. La progesterona, al parecer, presenta un pico previo a la

ovulación (Seal y cols., 1979) (Fig 6.) en el lobo gris de Norteamérica (*Canis lupus*) y en el lobo de crín sudamericano (*Chrysocyon brachyurus*) (Velloso y cols. 1998).

En la perra, hay evidencia de que una luteinización preovulatoria de los folículos maduros resulta en un incremento significativo de las concentraciones de progesterona; esto coincide con una disminución de los estrógenos (Concannon, 1991, Wildt y cols. 1979). Por otro lado, Christie, 1971) reportó no haber encontrado ningún pico preovulatorio de progesterona y sí lo encontró entre tres y cuatro días posteriores a la presentación del estro.

Al parecer, en algunas especies la acción de la progesterona precede a la de los estrógenos para la estimulación de la conducta de estro. De este modo, durante la primera ovulación de la estación reproductiva no se presenta un comportamiento sexual abierto, sino que la progesterona estimula a la hembra para que responda a los estrógenos en el siguiente ciclo. Esto ha sido reportado para el venado cola blanca (Harder y Moorhead, 1980), en el alce (Simkin, 1965, citado en Asa, 1996) y en el venado europeo (Curlewis y cols., 1988).

Por otro lado también se reporta que la progesterona tiene una acción bifásica sobre la conducta sexual femenina. Primero, la progesterona administrada 44 horas después de la administración de los estrógenos a ratas ovariectomizadas facilita la conducta sexual femenina y, posteriormente, una segunda inyección de progesterona es incapaz de estimular la conducta sexual en la rata (Blaustein y Wade, 1977) y el cobayo (Zucker y Goy, 1967). También hay reportes de que al administrarla en grandes dosis se induce una inhibición de la conducta sexual en la coneja, (Sawyer y Everett, 1959), en la rata, (González-Mariscal y cols. 1993), en la yegua (Asa, 1984) y en la mona rhesus (Michael y cols. 1968).

Los andrógenos también tienen relación con la conducta sexual femenina; se ha observado que su incremento durante la ovulación puede estimular la conducta de estro en la rata (Whalen y Hardy, 1970, citado en Morali y Beyer, 1979) y en el conejo (Beyer y cols., 1971). En la mujer al parecer los andrógenos están relacionados directamente con la libido (Sherwin, 1985).

Dentro de los mamíferos no primates, los andrógenos son los principales responsables de la conducta sexual masculina, incluyendo tanto la motivación como la consumación, como es el caso de la rata (Beach y Holtz-Tucker 1949, Hart 1974).

En los primates hay una relación muy importante entre la conducta sexual y la socialización y el aprendizaje; la dependencia estricta de la conducta copulatoria a los esteroides sexuales ya ha disminuido de manera importante en estos grupos (Nelson, 1995).

Por otro lado, diversos hallazgos confirman que los andrógenos también están relacionados con la aparición de la conducta agresiva relacionada con la defensa del territorio para reproducción y la defensa de la pareja, lo cual ha sido probado en diversas especies como el murciélago noctule (*Nyctalus noctula*) (Racey, 1974) el mono rhesus (*Macaca mulatta*) (Gordon y cols., 1976) el elefante asiático (*Elephas maximus*) (Jainudeen y cols.1972), la oveja (*Ovis aries*) (Mickelsen y cols. 1981) y el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Mc.Millan y cols., 1974) entre otros.

Algunas especies de cánidos presentan reproducción estacional como es el caso del lobo gris (*Canis lupus*) (Mech, 2000), la zorra fenec (*Vulpes cerda*), (Valdespino y cols. 2002) el coyote (*Canis latrans*) (Kenelly y Johns, 1976). Entre otras, estas especies presentan desarrollo testicular, espermatogénesis y secreción de testosterona con un patrón estacional; esto es, que las concentraciones de testosterona en sangre y la concentración de espermatozoides varían durante el año, presentando un aumento durante la etapa reproductiva y una disminución fuera de ella. Los perros y los dingos australianos no comparten esta característica; son reproductivamente competentes durante todo el año y esto coincide con que las hembras de estas especies pueden presentar el estro durante cualquier período del año (Asa, 1999; Feldman y Nelson, 1987).

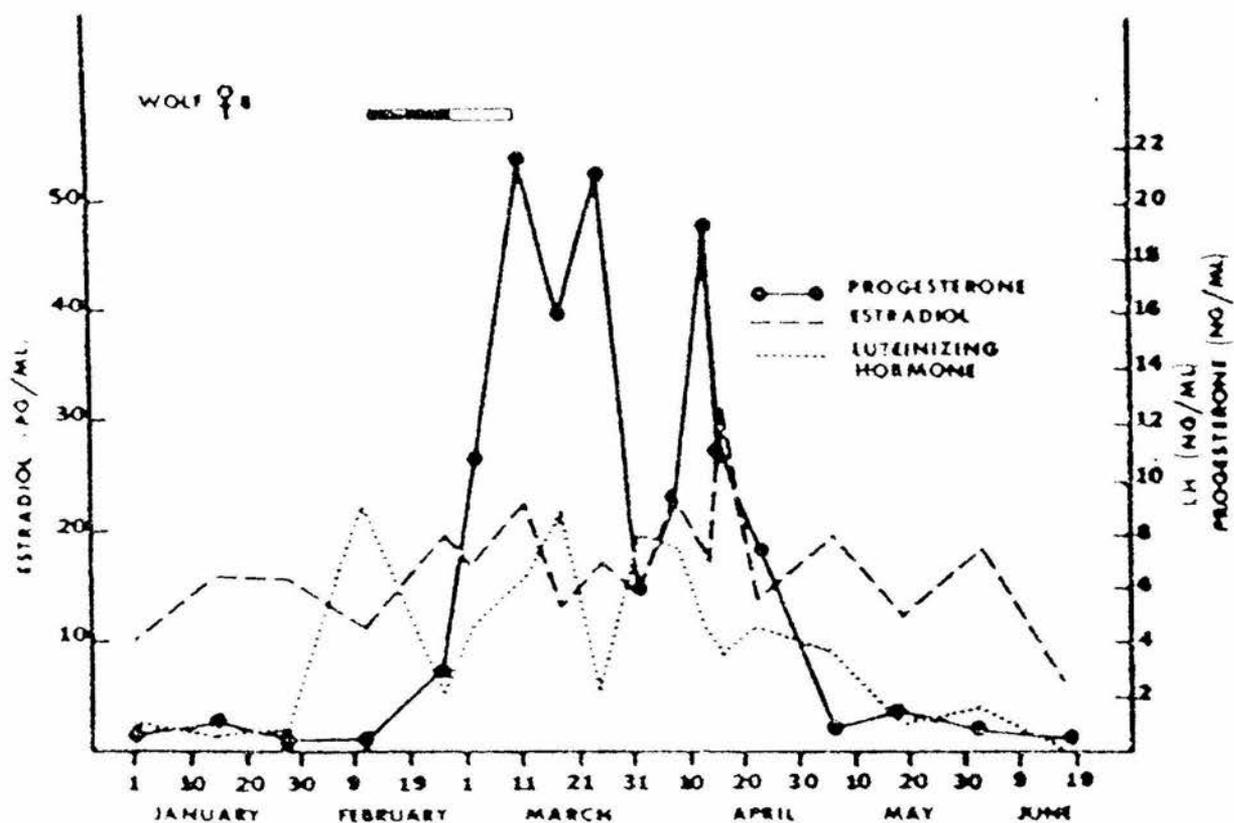


Fig.6 Niveles séricos de progesterona, 17β -estradiol, y LH en una hembra adulta de lobo gris (*Canis lupus*). La barra negra indica la duración del proestro y la barra clara la duración del estro. El parto fue el 6 de Mayo. (Gráfica tomada de U.S. Seal y cols. 1979)

HORMONAS ESTEROIDES

Las hormonas esteroideas son compuestos de naturaleza lipídica y se secretan en las glándulas adrenales y las gónadas. Estas hormonas tienen como precursor al colesterol, una molécula que contiene 27 átomos de carbono (Fig.6). Bajo la influencia de hormonas proteicas secretadas por la adenohipófisis, el colesterol es metabolizado a hormonas esteroideas tanto en las adrenales como en los ovarios y testículos. El núcleo esteroide está compuesto por una estructura de cuatro anillos llamado ciclopentanoperhidrofenantreno, que comparten tanto el colesterol como los esteroideas que se forman a partir de él. La diferencia entre cada una de las hormonas esteroideas la da la estructura de las cadenas laterales que la componen, el número de carbonos y sus constituyentes. (Litwack, 1997)

Las hormonas hipofisarias inducen la acción de la enzima desmolasa que rompe la cadena de 6 carbonos localizada entre los carbonos 20 y 22 de la molécula de colesterol, dando lugar a una molécula de 21 carbonos. La molécula resultante, la pregnenolona, es una progestina que actuará como una prohormona, o sea que es el principal precursor del resto de las hormonas esteroideas aunque puede actuar también por sí misma.

De la pregnenolona, por oxidación en la posición 3, se forma directamente la progesterona (Fig. 7), que además de tener muchas funciones dentro de los sistemas reproductor y nervioso actuará como una prohormona que dará lugar por eliminación de los carbonos 20 y 21 a otras hormonas esteroideas con 19 átomos de carbono, como son los corticoesteroides en las glándulas adrenales y los andrógenos en las gónadas. Estos últimos se forman por la ruptura enzimática del enlace entre los carbonos 17 y 20 luego de la introducción de un grupo etílico en el carbono 17. Los andrógenos resultantes son la testosterona y la androstendiona así como metabolitos reducidos de la testosterona que son la 5α y la 5β dihidrotestosterona (DHT). (Litwack, 1997). Estos andrógenos son producidos en las células de Leydig en los testículos y tienen un papel regulador de la espermatogénesis en las células de Sertoli, en el mantenimiento del tracto genital y las glándulas accesorias, además del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y del comportamiento sexual.

Los andrógenos son los precursores de los estrógenos. Hay unas enzimas específicas conocidas como aromatasas que están presentes en los ovarios, la placenta y el cerebro, y al romper el enlace del carbono en la posición 19 convierten a los andrógenos en esteroides de 18 carbonos: 17 β -estradiol, estrona y estriol. (Austin y Short, 1975).

La excreción de las hormonas esteroides ha sido examinada en algunas especies de mamíferos, como por ejemplo en las hembras del gato doméstico. La principal ruta de excreción de esteroides sexuales es a través de las heces fecales (Brown y cols., 1994) donde el tiempo de excreción a partir de la inyección del esteroide es de entre 11 y 50 horas.

En el mono Rhesus se han encontrado cantidades significativas de hormonas esteroides en las heces, reportándose que más de 57% de la progesterona es excretada por esta vía.

En el tamarín cola de algodón (*Saguinus oedipus oedipus*) se detectó el 43% de estrona y el 97% de progesterona excretadas a través de las heces (Plant, y cols., 1971; Ziegler, y cols., 1988).

En el lobo de crin sudamericano, Velloso y cols. (1998) reportan que aunque la testosterona es excretada en una parte importante como metabolitos fecales -mismos que no son detectados por el antisuero específico para la testosterona-, sí cuantificaron en heces testosterona de importancia biológica, (aunque no reportan el porcentaje). Además encontraron que el tiempo de excreción en heces a partir de la inyección de testosterona radioactiva en este animal fue de 5 horas.

En la hembra del perro salvaje africano (*Lycaon pictus*), la excreción de esteroides es en una proporción de 60:40 (heces-orina). En esta especie, el tiempo de excreción es de 18 horas después de haber recibido la inyección de esteroides radioactivos (Monfort, 1997).

En el lobo gris (*Canis lupus*) y en el lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) aún no hay reportes del porcentaje de esteroides excretados por las heces fecales.

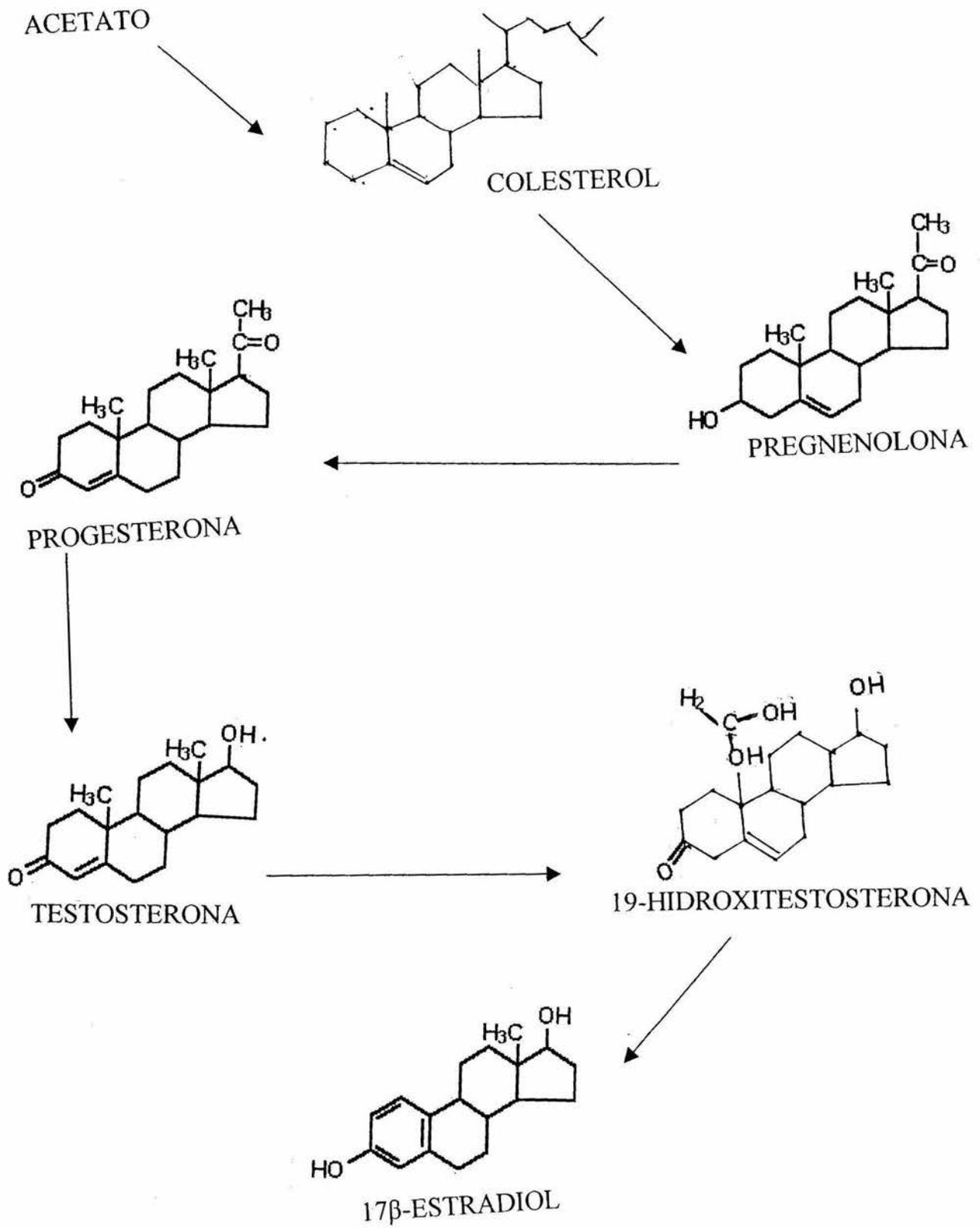


Fig. 7 Biosíntesis de Hormonas Esteroides sexuales. Modificado de Norman y Litwack (1997).

OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo hacer un estudio de las concentraciones de las Hormonas Esteroides Sexuales a partir de las heces fecales en un grupo de 14 lobos mexicanos (8 hembras y 6 machos) con la técnica de inmunoensayo enzimático (EIA), durante los meses de Enero, Febrero, Marzo, Abril y Mayo, de modo que se puedan determinar los cambios hormonales durante el proestro, el estro, diestro y en su caso durante la gestación, además de establecer una relación con las pautas de conducta sexual observadas durante tal periodo en estos lobos.

La importancia de tales estudios habla por sí misma: el Lobo mexicano no sólo es una subespecie representativa de México, sino que hablamos de un animal eminentemente social que presenta conductas numerosas conductas aprendidas. Esto lo hace menos estereotipado que otras especies y nos da la oportunidad de establecer un modelo para el estudio de la conducta. Y no menos importante: este tipo de estudios contribuye al conocimiento de su Biología Reproductiva y de gran valía para ayudar al desarrollo de técnicas que faciliten su reproducción como sería poder efectuar la inseminación artificial conociendo el día preciso de la ovulación, además de poder seleccionar características tanto conductuales como hormonales deseables para la fundación de manadas que puedan ser liberadas en sus sitios originales.

Además esta metodología podría utilizarse para seleccionar parejas que sean potenciales fundadores de estas manadas para liberación así como también poder utilizar el conocimiento recabado en programas de educación ambiental sobre el lobo mexicano, principalmente dirigidos a las comunidades de personas humanas que habitan en las cercanías de los posibles lugares de liberación y también en programas de educación ambiental a nivel escolar en todo el país.

MATERIAL Y METODOS

Con el objeto de establecer el perfil hormonal durante el periodo reproductivo tanto de hembras como de machos de lobo mexicano, en este trabajo se cuantificaron tres hormonas esteroides sexuales: progesterona, testosterona y estradiol con la técnica de inmunoensayo enzimático (Anexo 1)

Un total de 8 hembras y 6 machos de linaje certificado fueron estudiados (Tabla 1). Diez de los animales mostrados en la tabla se encontraban en pareja y las dos últimas hembras se encontraban solas en sus encierros.

Los lobos estaban localizados en encierros de los zoológicos pertenecientes a la Dirección General de Zoológicos de la Ciudad de México: el zoológico de Chapultepec, el zoológico de San Juan de Aragón y el parque de los Coyotes (Coapa). Cada uno de estos encierros cumple con los requisitos establecidos por el Comité Técnico consultivo para la recuperación del Lobo mexicano (Semarnat). Estos requisitos incluyen un área de exhibición, un área de manejo y una madriguera.

Los animales eran alimentados con pollo crudo una vez al día y con agua *ad libitum*.

En los encierros donde se localizaban los lobos, se colectaron muestras de heces fecales. Para poder distinguir a cual de los animales pertenecía la excreta, al alimento de las hembras se le ponía un colorante vegetal (Daimón®) de modo que el excremento saliera teñido. Las cuales se recogieron una vez por semana a la misma hora durante los meses de enero a mayo del 2003, Se colocaron en frascos que contenían alcohol al 70%, los frascos eran previamente etiquetados con el número correspondiente de cada animal y la fecha. Posteriormente los frascos se llevaron al laboratorio de mamíferos de la UAM donde se refrigeraron a 4° C hasta su análisis.

Tabla 1.- Nombres de los lobos estudiados, su número de identificación, el linaje al que pertenece cada uno, su edad y el lugar donde estaban localizados durante el estudio.

NOMBRE	NUMERO	LINAJE	EDAD	LOCALIZACION
Hembra Joy Macho Tasha	517 537	McBride San Juan de Aragón- McBride	5 años 4 años	Chapultepec
Hembra Jasna Macho Esdrah	663 32	S.J.Aragón- McBride San Juan de Aragón	4 años 8 años	San Juan de Aragón
Hembra Antara Macho "158"	282 158	San Juan de Aragón McBride	9 años 8 años	San Juan de Aragón
Hembra Rinty Macho Chuska	433 142	Ghost Ranch McBride	11 años	Parque de los Coyotes
Hembra Malory Macho Darkus	143 130	Mc Bride McBride	6 años 6 años	San Cayetano
Hembra Valentina	559	McBride	4 años	Chapultepec
Hembra "La hembra"	4	San Juan de Aragón	14 años	San Juan de Aragón
Hembra Zeewa Macho Ezequiel	445 485	McBride McBride	5 años 7 años	Chapultepec

Inicialmente se efectuó la extracción total de esteroides utilizando éter dietílico (Salame-Méndez y cols. 2003) y siguiendo los siguientes pasos: (Fig 8)

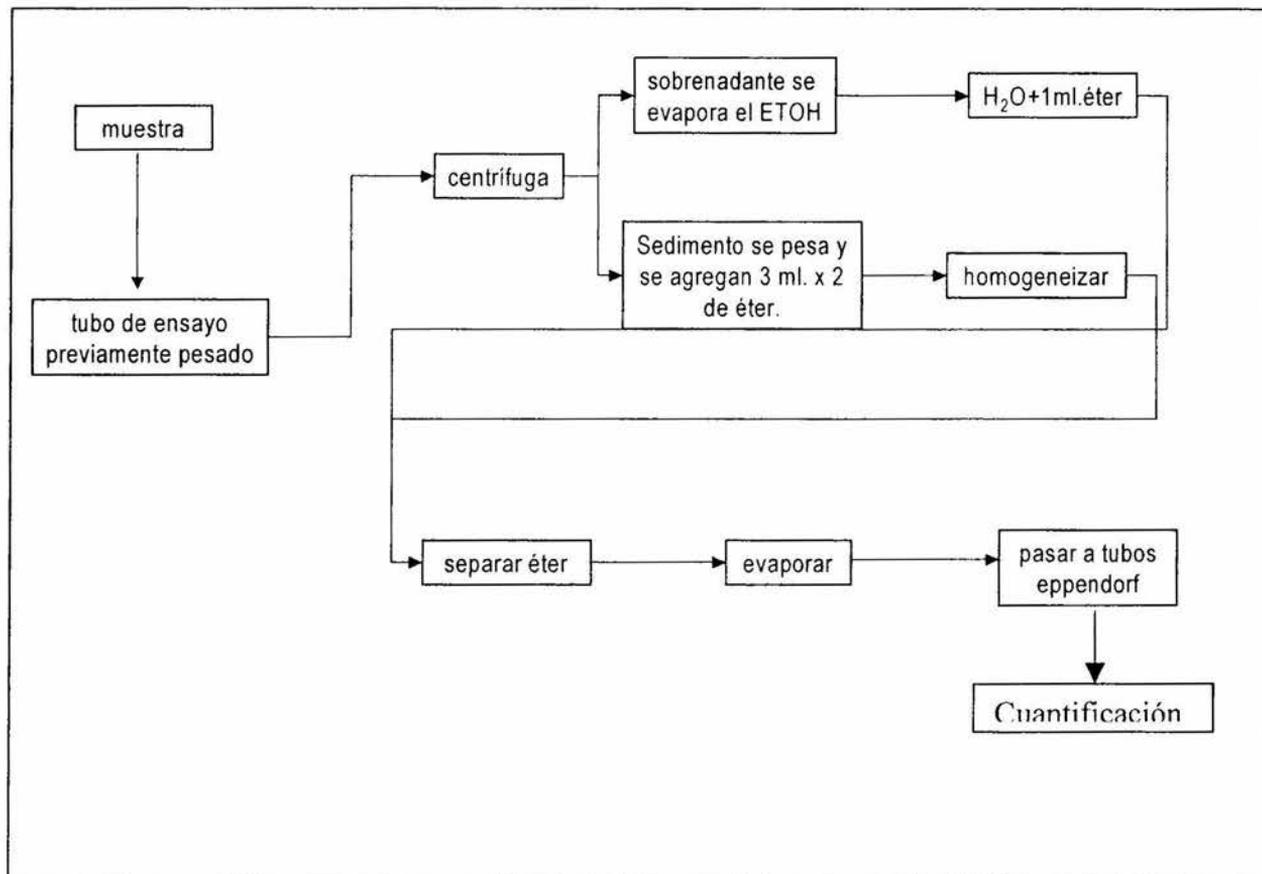


Fig. 8 Pasos para la extracción de las hormonas esteroides.

Posteriormente se procedió a cuantificar los esteroides, usando kits específicos para cada una de las hormonas. Cada kit consta de 96 pozos que contienen las placas de agarosa preparadas inicialmente con 50 μ l. del extracto de los esteroides, posteriormente se agregaron 100 μ l del antígeno conjugado a una enzima que es el que competirá con la hormona a medir, después de un período de incubación de 60 minutos para que se forme el complejo Antígeno-Anticuerpo se agregaron 100 μ de colorante para teñir la enzima unida al antígeno competidor. Se dejó incubar 30 minutos para que se efectuara la tinción adecuadamente y una vez terminado este procedimiento se utilizó un

espectrofotocolorímetro para llevar cabo la cuantificación de las hormonas esteroides (Ver anexo en página 63). Los resultados finales están dados en nanogramos por gramo de excreta (ng/g).

Se observó la conducta de los animales durante los meses de enero a abril, dos veces al día durante períodos de tres horas, de las 7:00 a.m. a las 10:00 a.m. y de las 17:00 hrs. a las 20:00 horas, ya que estas son las horas de mayor actividad en los lobos (Servín, 1991) para cuyo registro utilizó un etograma modificado a partir del etograma de Jorge Servín (1993) En este etograma se anotaba la fecha y hora de observación, el número del animal observado, cuál era la conducta emitida por el animal y la respuesta de la pareja correspondiente. En el caso de los lobos que se localizaban aislados no se hicieron observaciones de conducta sexual, solamente se cuantificaron los esteroides gonadales.

Las observaciones incluyeron todo el repertorio de conductas relacionadas con la reproducción, entre ellas: olfateo de genitales, lamida de genitales de la pareja, marcaje mutuo, solicitud de monta, contactos hocico-hocico, intentos de monta, presentación de los genitales (de la hembra al macho), montas, cópula. En su caso, se registró el rechazo de la hembra hacia el macho. La conducta estereotipada que consiste en movimientos repetitivos en 8 a lo largo del encierro, se presenta debido al estrés en animales en cautiverio, esta conducta también fue registrada.

SEXADO.- La pareja “Malory” (143) y Darkus (130) se localizaba en un encierro de 1.2 Has. de bosque de pino encino por lo que al ser muy difícil poder determinar a cuál de los dos animales pertenecían las excretas, se procedió a efectuar un sexado basándonos en que la relación Testosterona/Estradiol, es mayor para los machos (Bishop y Hall, 1991) y que por su suma resulta mayor la concentración de Testosterona en los machos que en las hembras (Velloso y cols. 1998 y Ayala Cano, 2000) . Por lo tanto se llevó a cabo una clasificación de las excretas en 2 grupos. Una vez clasificadas las muestras se ordenaron cronológicamente y esto definió los perfiles hormonales para cada sexo. Con el objeto de hacer una comparación entre las concentraciones de testosterona y estradiol entre los dos grupos, se utilizaron la prueba ANOVA de una vía y la prueba t de student. (Zar, 1999).

RESULTADOS

Las concentraciones de cada hormona presentaron diferencias muy grandes dentro de la misma hormona y los datos de la conducta resultaron estar también muy dispersos. Las cópulas se presentaron en baja frecuencia a diferencia de las presentaciones de genitales por las hembras y las montas por los machos, siendo que la cópula es la conducta más importante para llevar a cabo la reproducción. Al comparar la incidencia de cópulas con la incidencia del resto de las conductas con pruebas estadísticas como la Chi cuadrada, Kolmogorov-Smirnoff) resultó que por el escaso número de eventos la cópula no tenía importancia significativa cuando es el objetivo principal de la conducta sexual.

Todo esto impidió encontrar pruebas estadísticas adecuadas para llevar a cabo una relación entre las concentraciones hormonales y la presentación de determinadas pautas conductuales, así como para poder predecir el inicio de los picos hormonales.

Por lo tanto lo que intento en el análisis de los resultados es hacer una descripción en base a la observación de las gráficas y a las frecuencias observadas de la conducta.

En el sexado de las muestras fecales que se hizo para la pareja que se encontraba en un encierro de gran tamaño, sí se utilizaron pruebas estadísticas (ANOVA de una vía y t de student) (ver pag. 39) La descripción de los resultados se lleva a cabo animal por animal, describiendo primero su perfil hormonal y posteriormente su conducta.

H-517 -“JOY”

Perfil hormonal: (Fig.10)

El estradiol de “Joy” presentó dos picos el primero el 14 de febrero con una concentración de 48.55 ng/g, Un mes después, el 16 de marzo presentó un segundo pico de estradiol de 50.36 ng/g, este último pico perduró por una semana hasta el 23 de marzo donde alcanzó una concentración de 68.8 ng/g.

El 14 de febrero, esta hembra presentó un pico de progesterona con una concentración de 400.3 ng/g el día 14 de febrero. Dos semanas después de este pico, el 28 de febrero “Joy” presentó un segundo pico de progesterona con una concentración de 200.5 ng/g Y el 23 de marzo tuvo un tercer pico de 223.45 ng/g.

Desafortunadamente no se obtuvieron muestras en las fechas posteriores tratando de no perturbar al animal ya que se sospechaba que estaba gestante; de modo que no podemos saber cómo fue el descenso de esta hormona.

La testosterona presentó también un patrón cíclico con incrementos y decrementos que resultan en dos picos: en marzo 8 (83 ng/gr) que se prolonga por una semana hasta el 16 de marzo 16 (70 ng/gr) y en marzo 28 (92 ng/gr).

Conducta (Fig. 10)

Durante la primera semana de febrero, “Joy” presentó de manera escasa algunas conductas proceptivas como olfateo (Tabla 2) y lamidas a los genitales del macho (Tabla 3); además “Joy” intentó montar al macho en 5 ocasiones (Tabla 4), y en 2 ocasiones montó al macho (Tabla 5) coincidiendo los últimos intentos de monta y las montas con el inicio de la presentación de montas por parte del macho y las cópulas (Tabla 7) que se iniciaron a partir del 8 de febrero hasta el 19 del mismo mes es decir 7 días antes de los picos simultáneos de progesterona y de estradiol.

La conducta más frecuente de “Joy” fue la presentación de genitales (Fig. 10 y tabla 6) que comenzó desde el 1º de Febrero y llegó a presentar la mayor frecuencia del 11 al 17 de febrero; posteriormente mantuvo esta conducta durante todo este mes.

Las conductas afiliativas de tocarse hocico con hocico se presentaron en el mes de febrero. “Joy” no presentó movimientos estereotipados. Esta hembra quedó gestante y se metió en

su madriguera en la segunda semana de abril. El parto fue el 17 de abril, o sea 9 semanas después de las cópulas.

La frecuencia de conducta de marcaje fue mayor durante las dos primeras semanas de febrero, esto quiere decir que se presenta antes, durante y después de los primeros picos cuantificados de progesterona y estradiol.

HEMBRA "JOY" -517-

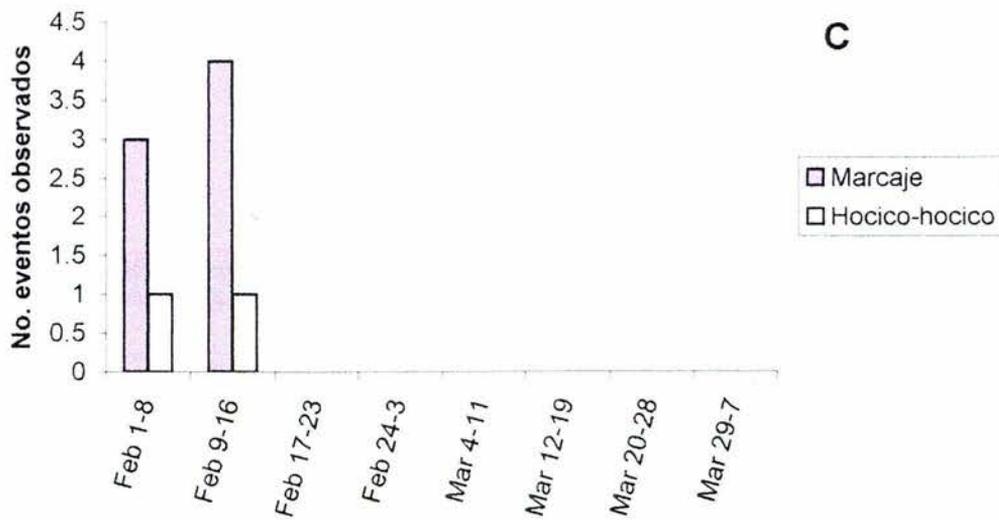
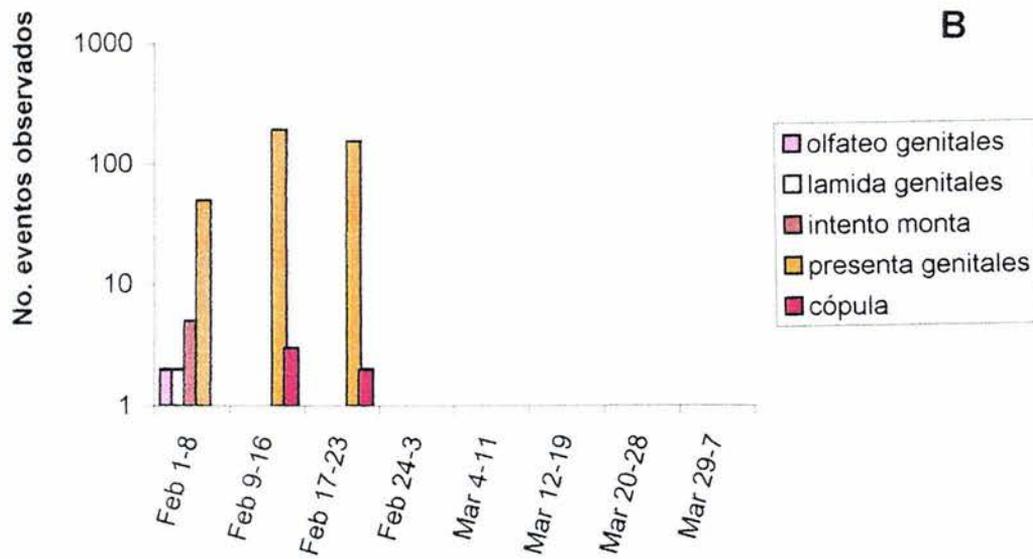
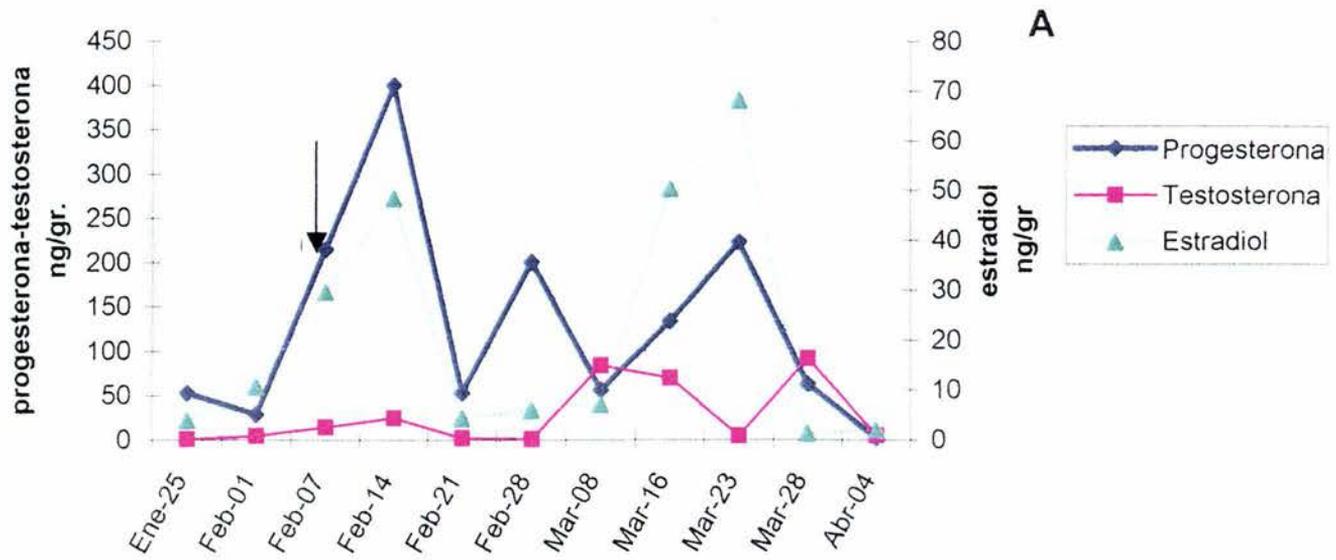


Fig. 10 A. Patrón hormonal. B. Conducta sexual C. Conducta de marcaje y contactos hocico-hocico. La flecha indica el inicio de las cópulas.

“JASNA” -663-**Perfil hormonal (Fig.11)**

Al igual que en “Joy” el estradiol de “Jasna” presenta un patrón cíclico de secreción. Con tres incrementos evidentes en su concentración: En febrero 27, alcanzó 27 ng/gr; en marzo 11 se presentó un pico de 40 ng/g y en abril 29 una concentración de 12 ng/gr.

También presentó tres picos de progesterona, el primer pico el 11 de marzo (313ng/g), coincidiendo con el segundo pico de estradiol, posteriormente apareció un segundo pico de progesterona de mayores concentraciones (400 ng/g) que tuvo una duración del día 1° al 17 de abril. El 22 de este mismo mes inicia un tercer pico de progesterona (147.85 ng/g) que termina el 7 de mayo, donde ya hay una disminución total en las concentraciones de la progesterona.

La testosterona de esta hembra presentó dos picos, el primero el 6 de febrero (131.6 ng/g) y el segundo el 11 de marzo (115 ng/g). Este segundo pico coincide con el segundo incremento del estradiol y con el primer pico de la progesterona.

Conducta (Fig.11)

En cuanto a la conducta sexual, se observaron cópulas el 6, 7 y 9 de marzo (Tabla 10). O sea que la receptividad de la hembra comenzó una semana después del primer pico de estradiol y 8 días antes de del primer pico de progesterona, la conducta permanece durante 2 semanas, lo que representa mayor tiempo que en las otras hembras. “Jasna” presentó numerosas conductas proceptivas que incluyeron 14 olfateos de genitales (Tabla 2), también tuvo una alta incidencia de presentaciones de genitales (135) (Tabla 6) durante el mes de marzo, algunas lamidas de los genitales del macho (10) (Tabla 3), varios intentos de montar al macho (17) (Tabla 4), y solamente 3 montas (Tabla 5). Estas conductas las presentó antes de la conducta receptividad. La conducta de marcaje no presentó cambios a lo largo de la temporada de observaciones. La hembra llevó a cabo además numerosos movimientos estereotipados durante toda la temporada de observación, pero, esto ocurrió con mayor frecuencia en las dos primeras semanas de marzo, lo cual coincidió con el mayor número de conductas reproductivas. Esta hembra no tuvo crías. Es importante mencionar que durante la primera semana de febrero, o sea un mes antes de la conducta sexual, Jasna presentó, aunque en baja frecuencia algunos componentes de conductas proceptivas, como

son olfateos de los genitales del macho, solicitud de monta, e intentos de montas. No presentó los genitales ni hubo cópulas en esta semana.

“Antara” -282-

Perfil hormonal (Fig.12)

El estradiol en esta loba presentó dos incrementos, el primero el 6 de febrero (26.24 ng/g.) y el segundo el 18 de febrero (26 ng/g.), aunque no disminuyeron demasiado sus concentraciones después del primer pico, se mantuvieron altas, el 13 de febrero presentó una concentración de 19.9 ng/g.

En la secreción de la progesterona se observaron tres picos. El primero el 1° de febrero (89 ng/g), el segundo pico el 27 de febrero (133.5 ng/g) y el tercero el 6 de marzo.(133.33 ng/g).

La testosterona se mantuvo en bajas concentraciones llegando a un máximo el 1° de febrero con un pico de 32 ng/g.

Conducta (Fig.12)

Las cópulas comenzaron a observarse el 16 de febrero y continuaron observándose el 18 y 19 de febrero luego de 10 días de estar altas las concentraciones de estradiol y 2 días antes del segundo pico de progesterona (Tabla 7).

Las conductas proceptivas, comenzaron a presentarse antes del segundo pico de progesterona; En “Antara” se observaron olfateos de genitales durante 11 ocasiones en coincidencia con las cópulas (del 15 al 19 de febrero) (Tabla 2) y vuelve a presentar 11 veces más esta conducta dos días después del segundo pico de progesterona. No se observó si lamía los genitales del macho (Tabla 3), solamente se observaron un intento de monta (Tabla 4) y una monta (Tabla 5).

La presentación de genitales se observó en 30 ocasiones, (Tabla 6) conducta que tuvo su mayor frecuencia después del incremento de estradiol y antes del pico de progesterona.

La conducta estereotipada se presentó de manera frecuente durante toda la temporada.

La conducta de marcaje en esta hembra se mantuvo sin variación durante todo el período de observación; el olfateo de orina del macho se incrementó durante febrero y aunque en menor frecuencia, siguió apareciendo en marzo. Esta hembra no tuvo crías.

Esta hembra tenía problemas de salud debido a una mala nutrición como consecuencia de que carecía de lengua y presentaba un problema agudo en páncreas

HEMBRA "ANTARA" -282-

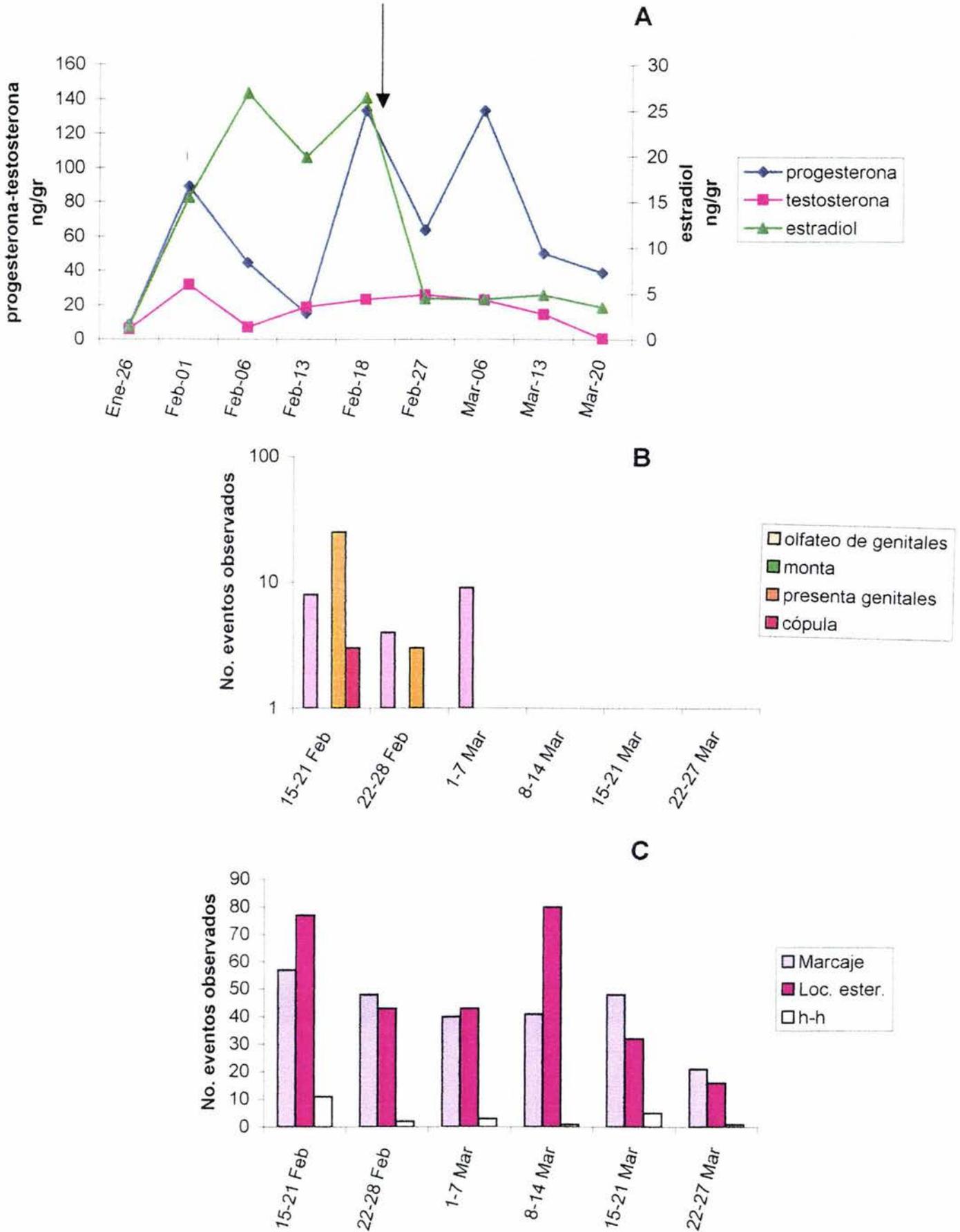


Fig. 12 A. Patrón hormonal B. Conducta sexual C. Conducta estereotipada, marcaje y contactos hocico-hocico.

La fl flecha indica el inicio de las cópulas.

Rinty -433-**Perfil hormonal (Fig.13)**

“Rinty” presenta un patrón hormonal de picos al igual que el resto de las hembras.

El estradiol presenta varios incrementos (5) el mayor de los cuales se presentó el 11 de abril con una concentración de 20 ng/g.

La progesterona también presenta tres picos, el primero el 6 de febrero de 80.15 ng/gr, el segundo el 4 de abril de 80 ng/g y el tercero el 16 de mayo de 60 ng/g.

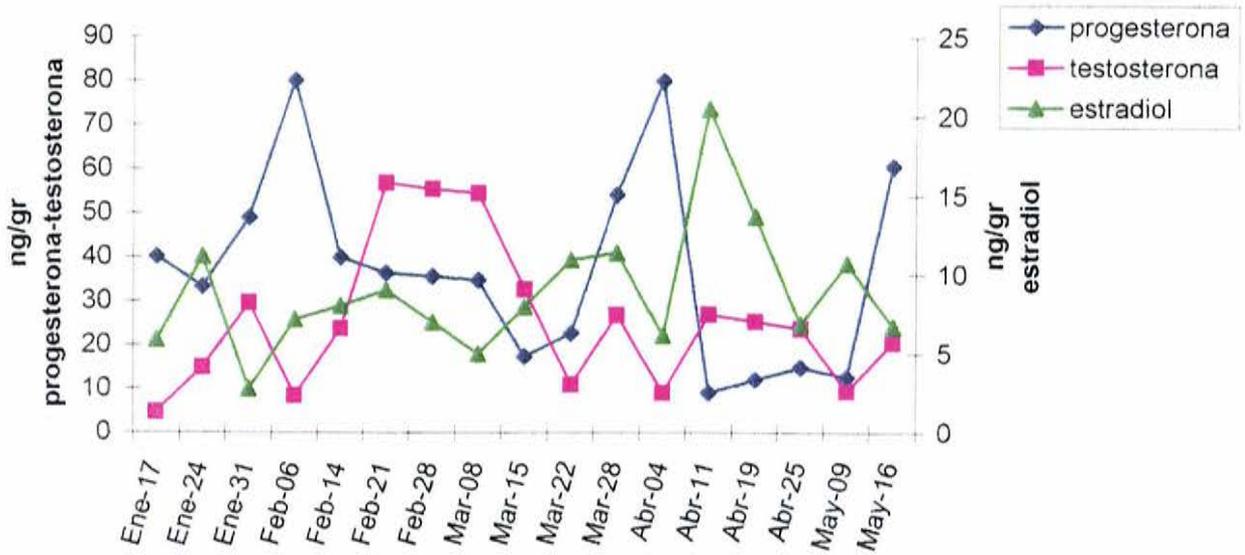
La testosterona en esta hembra tiene dos incrementos, el primero el 1 de febrero con una concentración de 28 ng/g y el segundo se presentó el 21 de febrero con 56 ng/g a partir de aquí la testosterona se mantuvo incrementada hasta el 8 de marzo con 54 ng/g llegando a los 60 ng/g, y permanece alta por dos semanas.

Conducta

No se presentaron cópulas ni otros componentes de conducta sexual. Esta hembra rechazó continuamente los intentos de monta por parte del macho

HEMBRA "RINTY" -433-

A



B

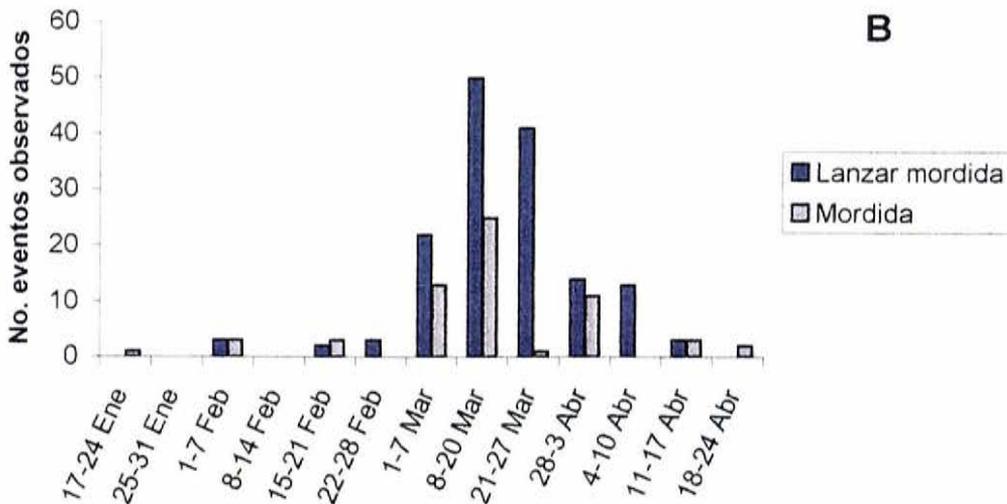


Fig. 13 A. Patrón hormonal. B. Conductas antagónicas hacia el macho.

MACHOS:**Macho Tasha -537- (Fig.14)****Perfil hormonal**

“Tasha”, pareja de “Joy”, presentó dos picos de testosterona en altas concentraciones, el primero el 2 de febrero de 314 ng/g, y el segundo el 7 de marzo con una concentración de 266.66 ng/g Ambos picos coinciden exactamente con 2 picos de progesterona, el primero, el 2 de febrero alcanzó una concentración de 399 ng/g y el del 7 de marzo 266.6 ng/g. El 20 de febrero Tasha presentó un otro pico de progesterona de 242 ng/g El estradiol en Tasha presenta incremento el 8 de marzo (50.6 ng/g) y se mantiene elevado hasta el 16 de marzo con la misma concentración.

Conducta (Fig.14)

Las cópulas (que incluyeron el “lock”) se presentaron seis días después del primer pico de testosterona; durante el segundo pico de testosterona el macho no presentó conducta sexual, solamente algunos olfateos a los genitales de la hembra.

La conducta de cortejo de este macho incluyó una alta incidencia de olfateos de genitales, (109) (Tabla 8) y en 40 ocasiones se observaron lamidas de los genitales de la hembra (Tabla 9), así como 17 intentos de monta (Tabla 10) y solo 4 montas (Tabla 11). Estas conductas se presentan a partir del primer pico de testosterona.

La conducta de marcaje y los contactos hocico-hocico no presentaron diferencias a lo largo de la temporada de observación.

Este macho presentó una alta frecuencia de movimientos estereotipados

MACHO "TASHA" -537-

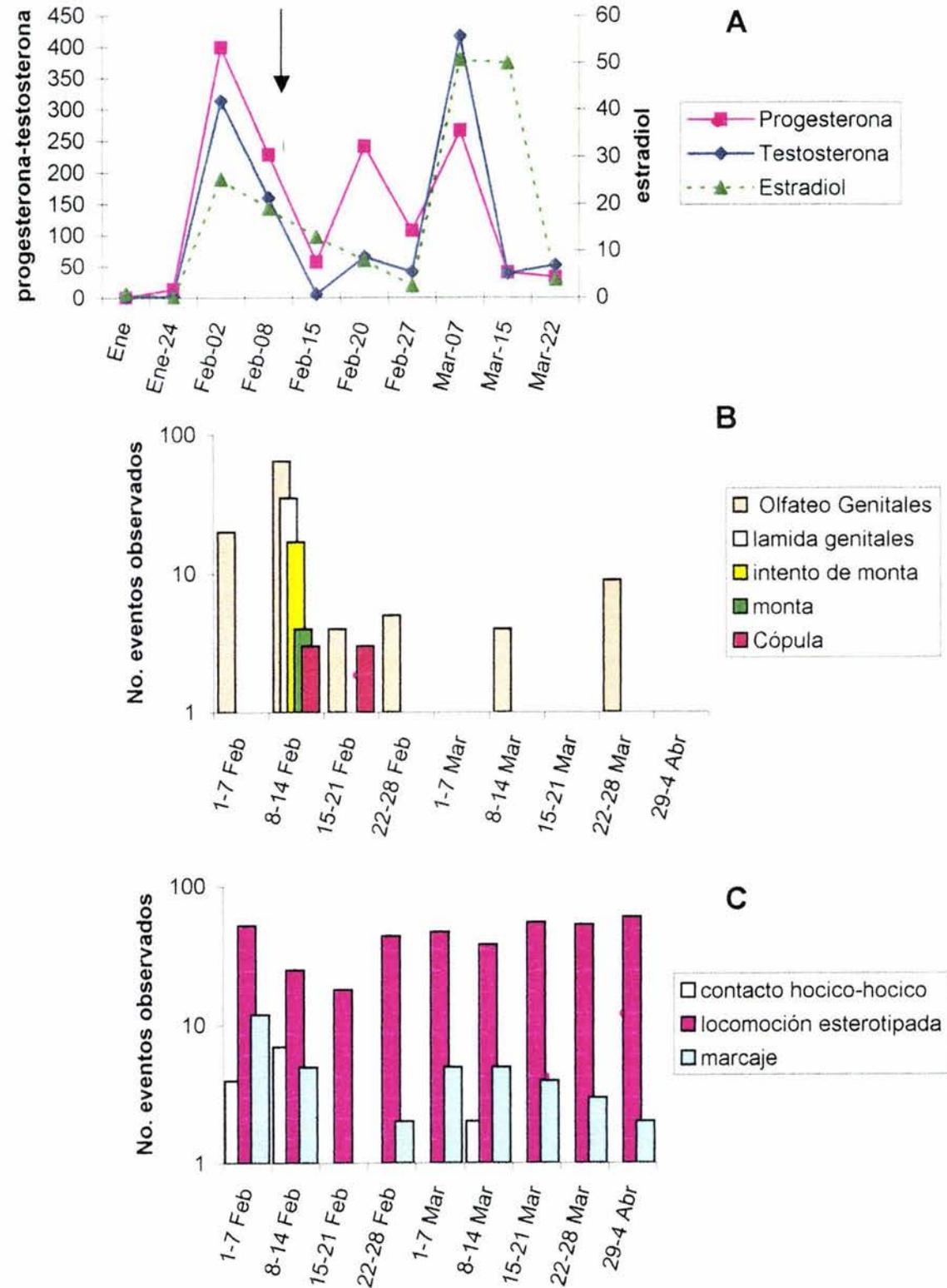


Fig. 14 A. Patrón hormonal B. Conducta sexual C. Movimientos estereotipados, marcaje y contactos hocico-hocico.
La flecha indica el inicio de las cópulas.

Macho -158 - “158” (Fig.15)**Patrón hormonal**

El macho “158”, pareja de “Antara” presenta un patrón hormonal que incluyó varios picos de testosterona con una menor concentración que en el caso del macho “Tasha” (90 ng/g, 100 ng/g y 80 ng/g) Es importante notar que a partir del primer pico la testosterona permanece en concentraciones elevadas durante varias semanas.

La progesterona presenta cuatro picos que coinciden con los picos de testosterona

El estradiol también presentó un patrón de aumentos y decrementos también siguiendo el patrón de picos de las hormonas anteriores.

Conducta (Fig.15)

La conducta sexual se presentó después del inicio del primer pico de testosterona, pero aún cuando las concentraciones se encontraban elevadas. La conducta incluyó numerosos olfateos (117), (Tabla 8) y 18 lamidas de genitales (Tabla 9), se observaron 95 intentos de monta (Tabla 10) y 133 montas (Tabla 11). Las 3 cópulas observadas fueron completas (Tabla 12), incluyendo el candado, como se observaron días 16, 18 y 19 de febrero.

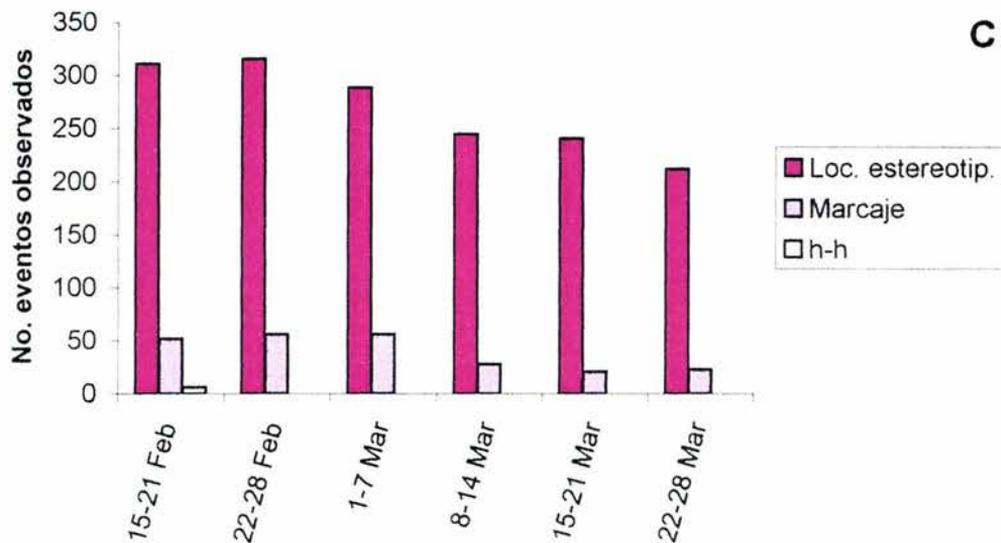
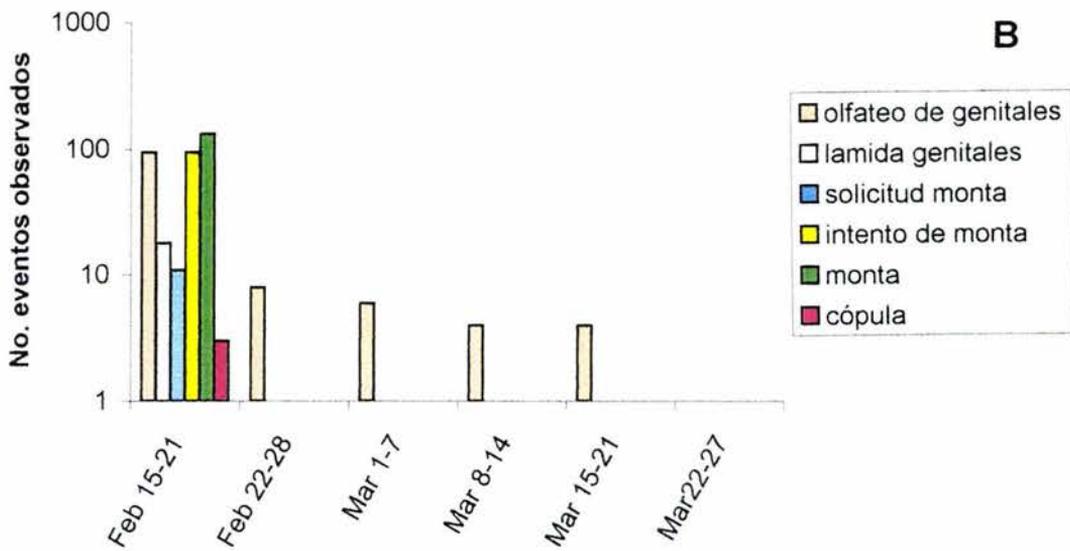
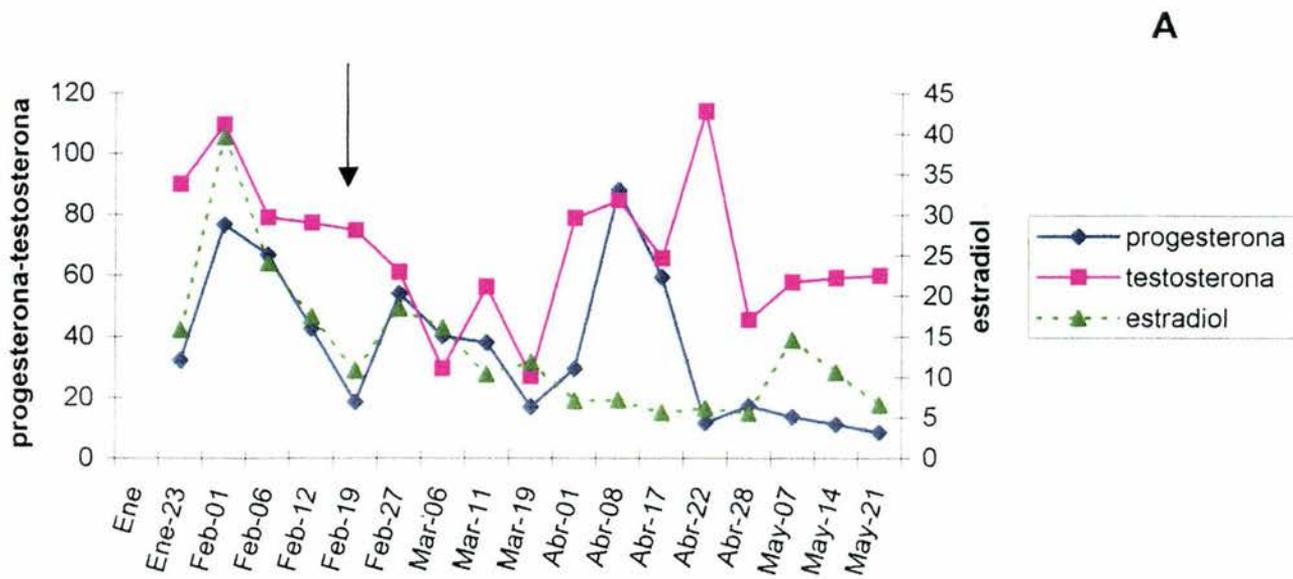


Fig. 15 A Patrón hormonal B Conducta sexual C Conducta estereotipada, conducta de marcaje y conducta hocico-hocico. La flecha indica el inicio de las cópulas.

Macho “Esdrah” -289- (Fig.16)**Perfil hormonal**

“Esdrah”, pareja de “Jasna”, presentó un patrón hormonal muy irregular, con 7 picos de testosterona en diferentes concentraciones

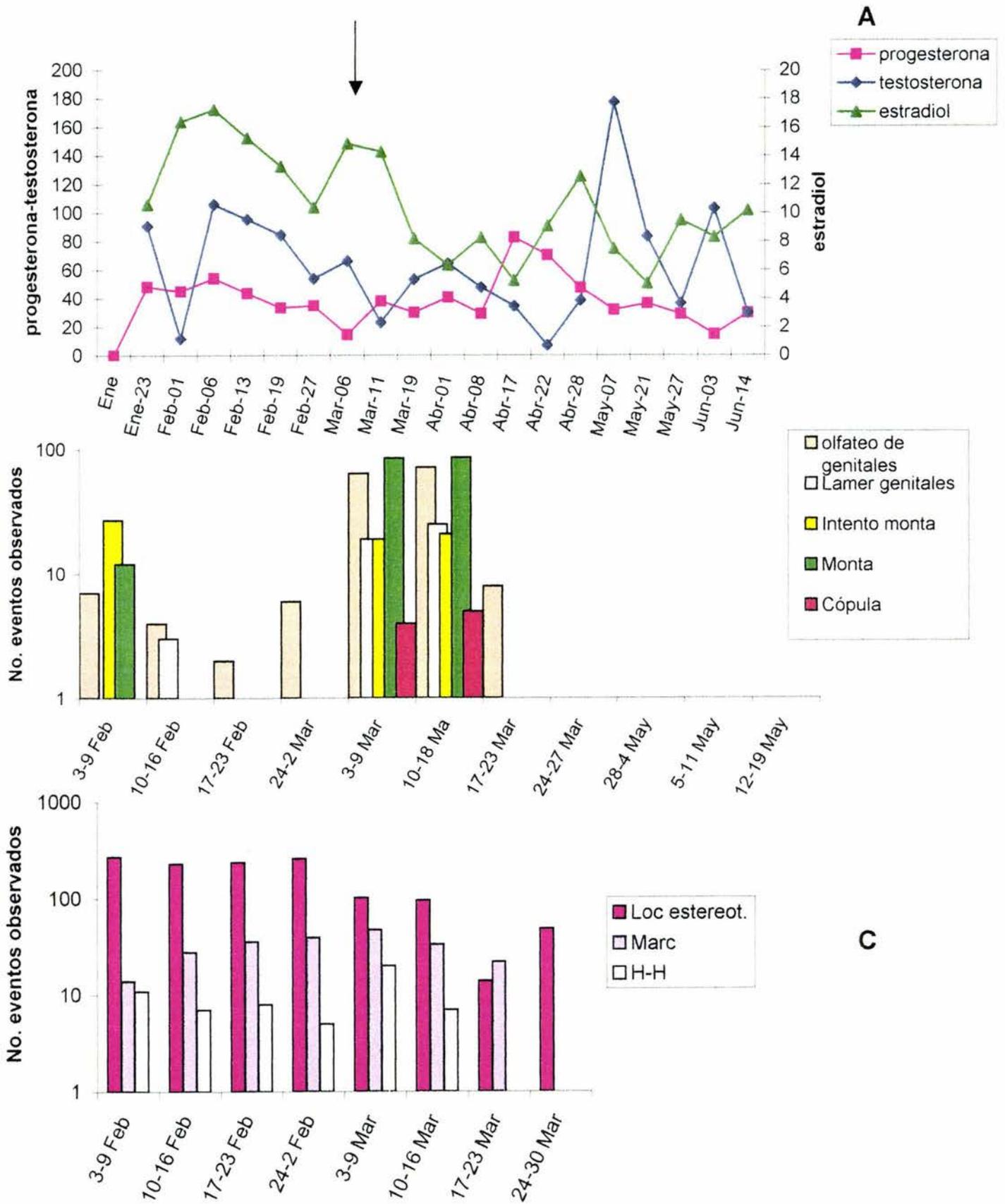
(90 ng/g, 120 ng/g, 60 ng/g, 50 ng/g, 60 ng/g, 180 ng/g, 110ng/g). Este macho también presenta un patrón de picos de progesterona en bajas concentraciones. El estradiol se mantuvo en bajas concentraciones y sólo presentó un ligero incremento en las fechas de las cópulas.

Conducta (Fig.16)

Este macho presentó conducta sexual en la segunda semana de marzo, fecha que coincide con el tercer pico de testosterona. Este pico es de los de menor concentración (60 ng/g), pero posterior al segundo pico de 120 ng/g.

La conducta sexual incluyó 163 olfateos de genitales observados (Tabla 8) y en 49 ocasiones se observó que lamía los genitales de la hembra (Tabla 9), se observaron 69 intentos de monta (Tabla 10) y 268 montas (Tabla 11), así como 9 cópulas completas incluyendo el candado, estas cópulas no resultaron en gestación.

MACHO "ESDRAH" -289-



Macho Chuska -142- (Fig.17)

Este macho, pareja de “Rinty”, presentó un solo pico de testosterona durante las dos primeras semanas de febrero, coincidiendo con un pico menor de progesterona.

Conducta (Fig.18)

El comportamiento sexual de este animal incluyó algunas conductas de cortejo, como olfateo de genitales (Tabla 8) e intentos de monta, los cuales se presentaron en muy alta frecuencia (Tabla 10), aunque nunca se observaron montas ni cópulas. Estas conductas se incrementaron en la segunda semana de marzo, coincidiendo con un pico menor de testosterona.

MACHO "CHUSKA" -142-

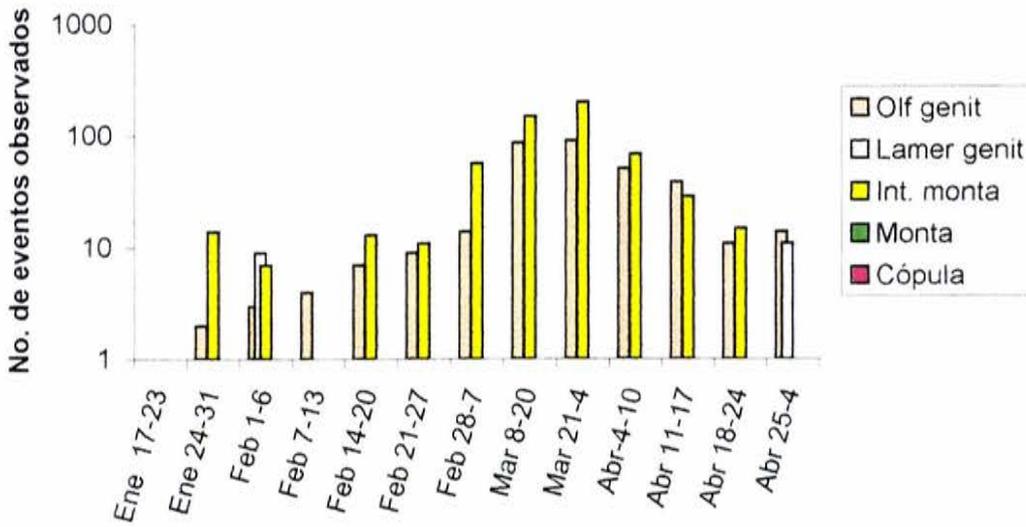
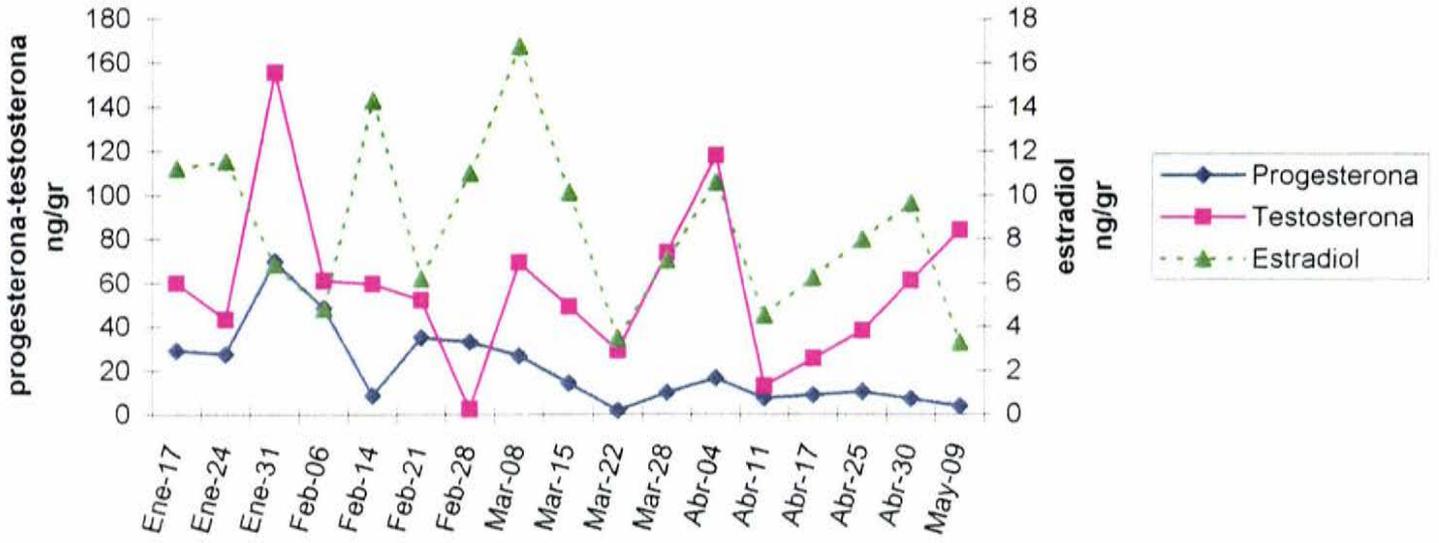


Fig 17. A. Patrón hormonal. B. Conducta sexual.

Sexado de las excretas de la hembra “Malory” y del macho “Darkus”.- Los valores hormonales, definiendo el sexo de las excretas, estuvieron comprendidos por aquellas excretas cuya concentración del andrógeno estaba entre 1 y 11 ng/g (Grupo A), y por otro, las que estaban entre 17 y 85 ng/g (Grupo B). Con la prueba t de student se compararon las medias de los dos grupos. Para la testosterona se obtuvo, para el grupo A, una media de 3.63 ± 0.90 ng/g y para el grupo B, de 28.31 ± 6.88 ng/g ($p < 0.01$, g.l.35). En la comparación del estradiol, para el grupo A obtuvimos un promedio de 15.77 ± 1.45 ng/g y para el grupo B, de 9.7 ± 2.45 ng/g ($p < 0.01$, g.l.35). Al realizar análisis de varianza de una vía (ANOVA) encontramos diferencias significativas entre las concentraciones de hormonas en los dos sexos ($f = 8.23$ g.l. 3.70, $p < 0.0001$). Para probar las diferencias en concentraciones por sexo se realizaron dos contrastes ortogonales (Zar 1999), constatándose en el macho que la concentración total de estrógeno fue significativamente menor que de la testosterona ($t = 2.37$, $p < 0.020$, 36 g.l). (Fig 19) y que en la hembra el contenido de estrógeno fue significativamente mayor que de testosterona ($t = 3.54$, $p < 0.001$, 34 g.l.) (Fig.18).

A partir de lo anterior se consideró que el grupo A de heces provenía de la hembra y el grupo B del macho. La asignación del sexo se confirmó a partir de la muerte de este macho que ocurrió (Fig.19), es decir, 4 días antes de realizar la recolecta de la octava muestra, por causas desconocidas. Al comparar la concentración de T cuando el macho aún vivía, con las muestras recogidas posteriormente a la muerte del macho, se encontró que todas caían en los intervalos asignados al grupo A, confirmando que pertenecía a la hembra (Fig.18).

Hembra “Malory” -143-**Perfil hormonal.-**

En la hembra la P4 tuvo un patrón de aumentos-decrementos (Fig. 18); los incrementos se presentaron en los inicios de enero y febrero, y después en la segunda semana de marzo donde se observó una mayor concentración. La T tuvo cuatro picos: primera semana de enero, tercera de febrero, segunda de marzo y tercera de abril . Por último, la concentración de E2 presentó tres picos importantes: primera semana de enero, tercera de febrero y segunda semana de abril . Cabe resaltar que en la cuarta semana de febrero inició su disminución coincidiendo con el incremento de la concentración de la progesterona, que llegó a su máximo en la segunda semana de marzo.

Conducta.- “Malory” tuvo conducta receptiva a mediados de marzo, presentando los genitales al macho y aceptando las montas. Estas conductas se presentaron después del incremento del estradiol y previo a un incremento en la progesterona.

HEMBRA MALORY

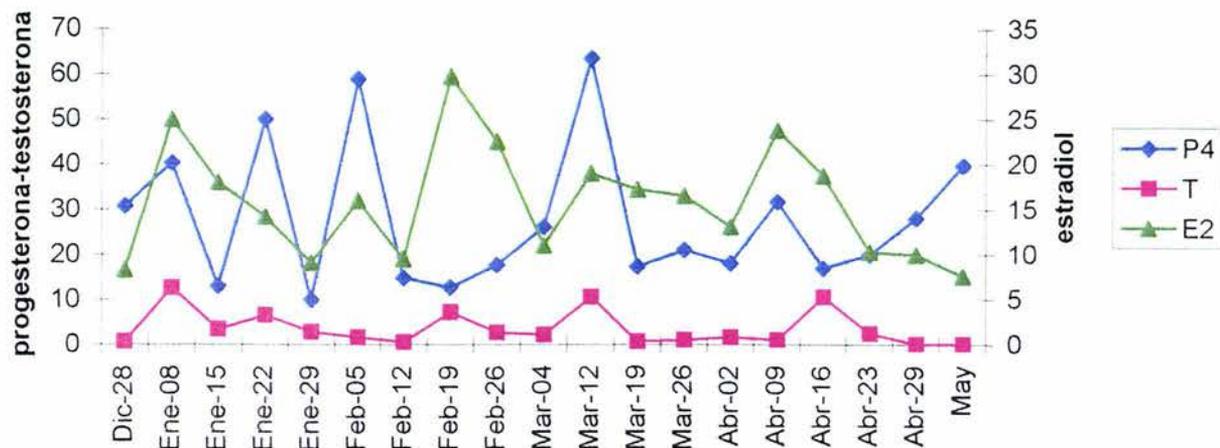


Fig. 18 Patrón hormonal de la hembra Malory. Notar las bajas concentraciones de Testosterona comparada con el macho Darkus (Fig.19)

Macho “Darkus”-130-**Perfil Hormonal.**

En este macho, la concentración de Testosterona tuvo un patrón cíclico con incrementos y decrementos (Fig. 19). Su incremento se inició a principios de enero y tuvo una disminución en la segunda semana del mismo mes; este patrón se volvió a presentar a mediados de febrero y marzo . La Progesterona tuvo variaciones cíclicas que en algunas semanas coincidieron con las de la Testosterona como lo fue en la tercera semana de enero y de febrero, respectivamente . El estradiol se mantuvo sin cambios evidentes hasta la primera semana de marzo, en donde tuvo un incremento.

Conducta.-

A mediados del mes de marzo, en coincidencia con el pico mayor de progesterona, “Darkus” presentó algunas montas pero sin movimientos pélvicos y de muy corta duración, a pesar de que la hembra se mostró receptiva.

MACHO DARKUS

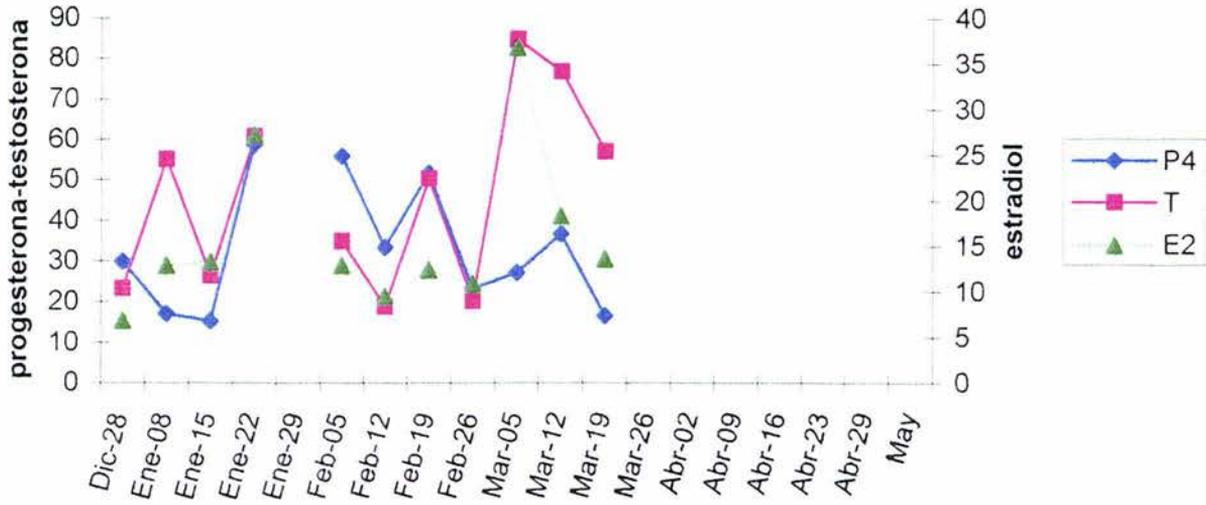


Fig. 19 Patrón hormonal. En la cuarta semana de enero no se recogió ninguna muestra correspondiente al macho.

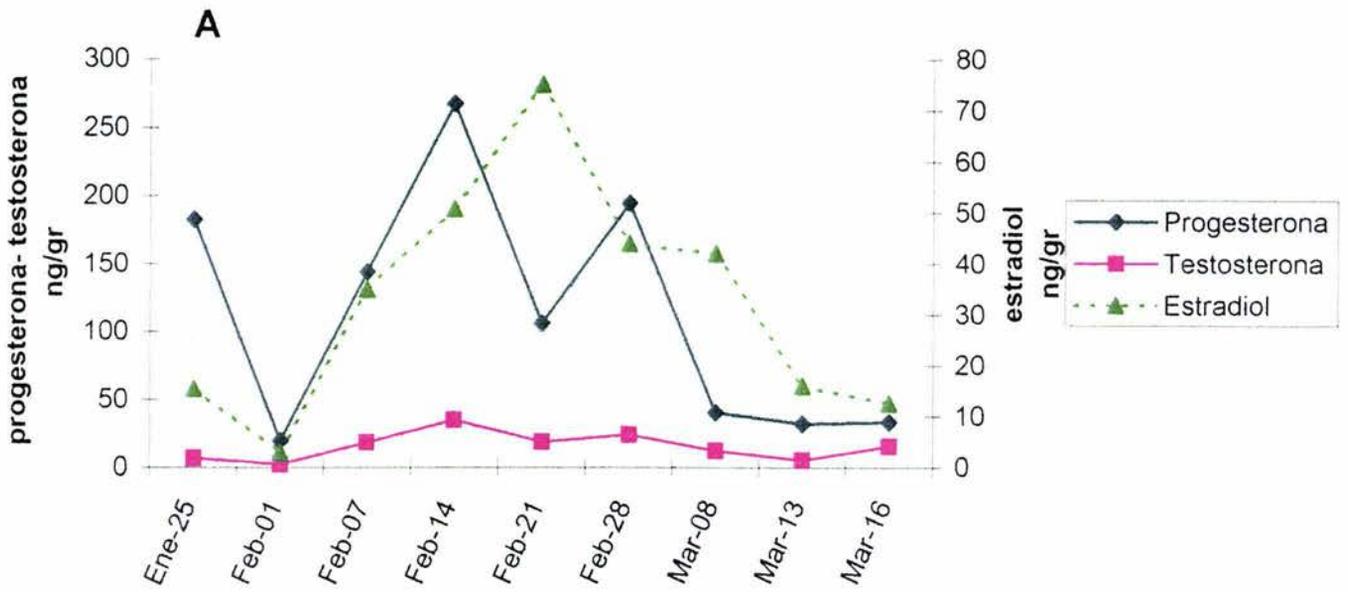
HEMBRAS AISLADAS

“La hembra” -4- se localiza sola en un encierro; por esto no se observó su conducta aunque sí se cuantificaron sus esteroides sexuales. Es importante notar que a pesar de tener 14 años en el momento del estudio, aún presentó pico en la secreción de progesterona, pero ya en concentraciones muy bajas, llegando a un máximo de 28 ng/g de excreta. La testosterona también presentó un ligero incremento de 13 ng/g y el estradiol llegó a un máximo de 7 ng/g (Fig.20 A).

La hembra “Valentina” -559-, también se localizaba sola en un encierro por lo que tampoco se pudo observar conducta sexual. Esta hembra presentó un sólo pico de progesterona de 110 ng/g de excreta durante el mes de febrero y un ligero incremento del estradiol en estas mismas fechas (Fig.20 B).

“Seewa” No presentó conducta sexual. Lo importante de notar, es la alta incidencia de movimientos estereotipados indicando un alto grado de estrés. Y presentó mucho rechazo al macho (“Ezequiel”) cuando este se acercaba e intentaba montarla. Esta hembra falleció una vez terminado el estudio; al hacerle la necropsia se encontró que tenía tanto ovarios como testículos. (Rivera J.A. comunicación personal). Esta pareja era de mucho valor, ya que ambos están poco representados en la población de lobo mexicano. Con el objeto de no provocarles mayor estrés, se decidió no entrar a su encierro para tomar las muestras. Sólo se observó la conducta.

VALENTINA -559-



HEMBRA "LA HEMBRA" -4-

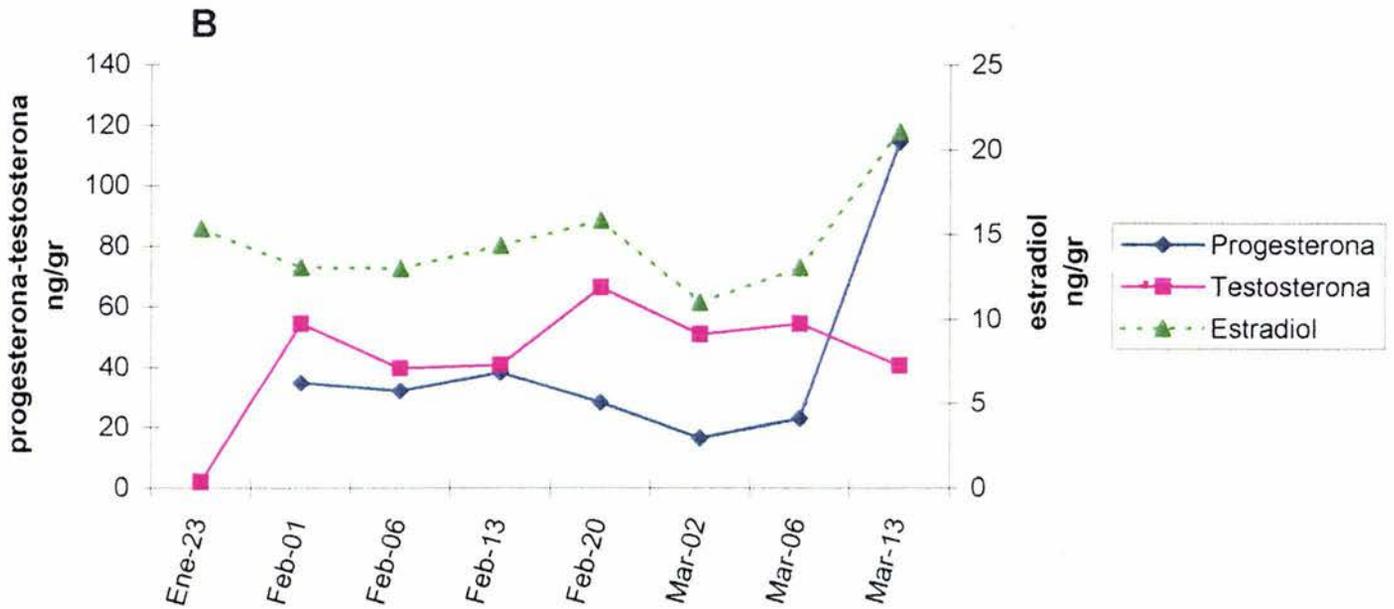


Fig 20 A. Patrón hormonal de la hembra Valentina
 B. Patrón hormonal de la hembra -4-

HEMBRA "JASNA" -663-

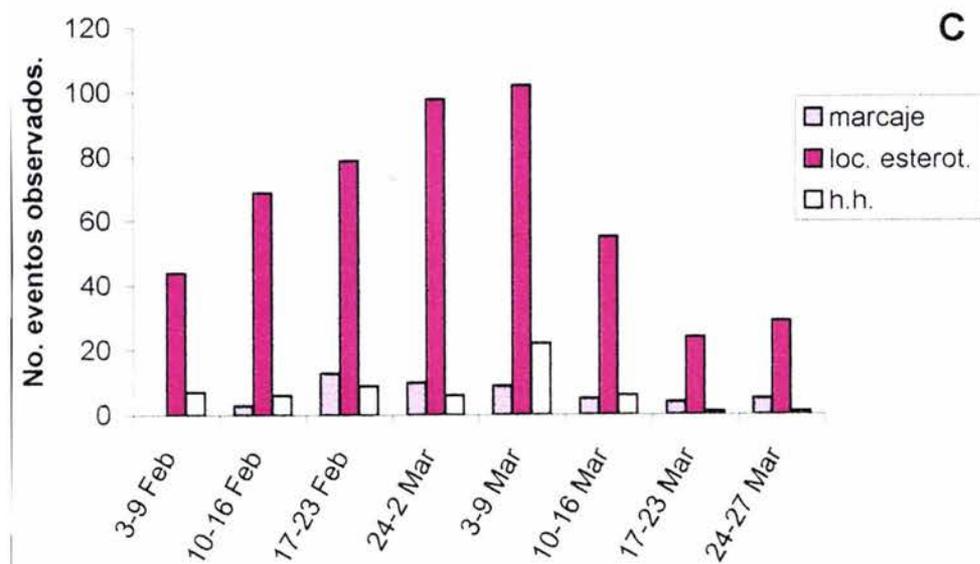
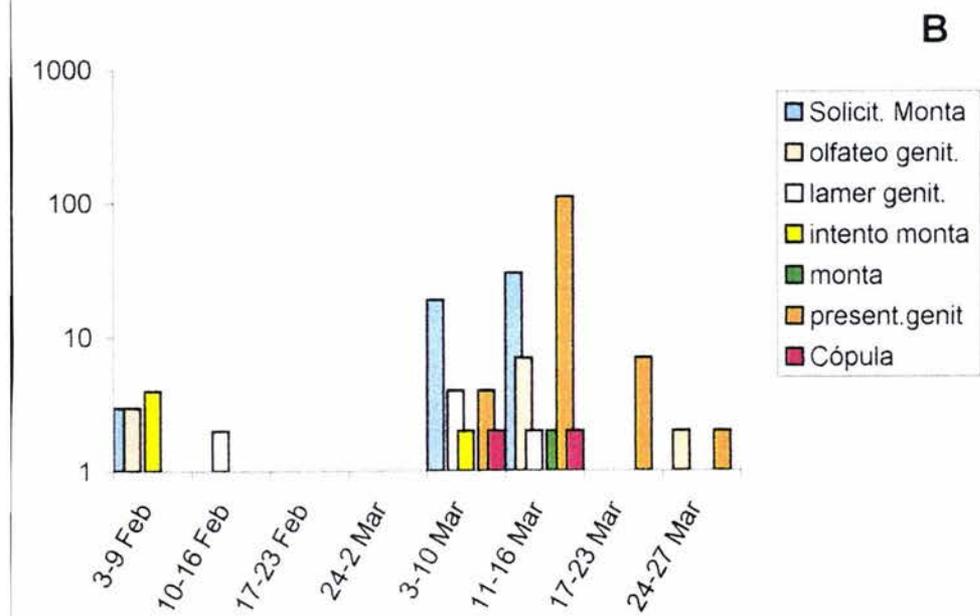
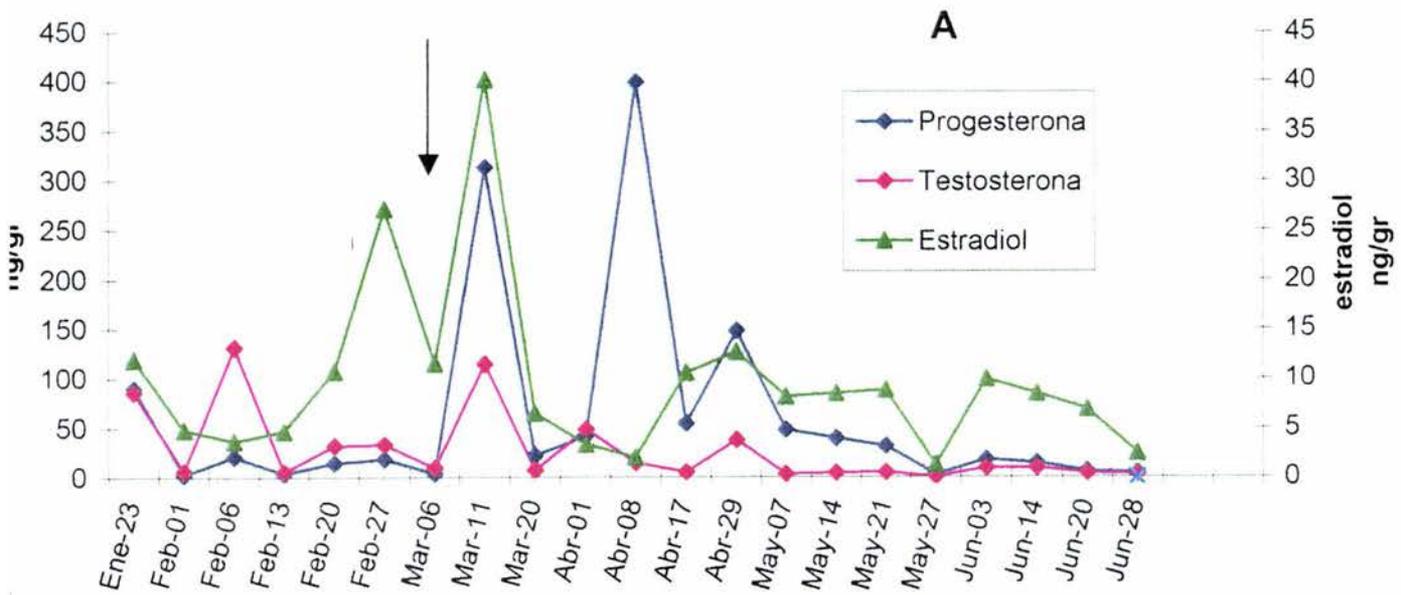


Fig 11 A. Patrón hormonal B. Conducta sexual C. Conducta estereotipada, de marcaje y contactos hocico-hocico.

La flecha indica el inicio de las cópulas.

DISCUSION

En las hembras, la progesterona cuantificada tuvo importantes variaciones. El perfil de esta hormona presentó numerosos picos de secreción y este hecho sugiere que tal vez haya una secreción pulsátil de la LH, como ha sido reportado en el venado Péré Davis (*Elaphurus davidianus*) (Chunwang, 2001) y en el lobo gris (*Canis lupus*) (Seal, 1979). Para poder efectuar la valoración de las concentraciones de la LH es necesario obtener muestras de sangre diariamente y en ocasiones varias veces al día, lo que hizo imposible que en el presente trabajo se efectuara la cuantificación de esta gonadotropina.

Ha sido reportado que los folículos en las hembras de los cánidos pasan por una luteinización preovulatoria, la cual induce a una secreción de progesterona previa a la ovulación; este incremento en la progesterona, paralelo a una disminución en las concentraciones del estradiol es necesario para la estimulación de la receptividad y la ejecución de la cópula en el lobo gris (*Canis lupus*) (Seal y cols. 1979; Asa, 1996) y en perros (Concannon, 1975). En algunos casos, la conducta sexual perduró suficiente tiempo hasta coincidir con el segundo pico de progesterona que muy probablemente corresponda al incremento postovulatorio.

En todas las hembras los resultados muestran que la secreción de estradiol tiene importantes variaciones, ya que se observan incrementos cíclicos en su secreción. En tres de las hembras (Malory, Jasna y Antara) observamos la presencia de la conducta sexual posterior a un incremento en la concentración del estradiol. Estos resultados coinciden con lo sugerido por Asa (1996) en estudios efectuados en el lobo gris (*Canis lupus*) donde se afirma que el estradiol es el responsable de la conducta de cortejo. La hembra "Malory" presentó conducta receptiva posterior a un pico de estradiol y en el momento en que iniciaba un incremento de la progesterona, pero no se observó conducta sexual posterior a esta fecha.

Aunque mostró conducta receptiva, esta hembra no llegó a presentar cópula en el período analizado, tal vez debido a que las montas del macho fueron cortas y aparentemente débiles. Además, el macho falleció por causas desconocidas pocos días después de efectuar las montas, lo que hace pensar que se encontraba en malas condiciones de salud.

En la hembra “Jasna” -663-, las cópulas comienzan a presentarse tres días antes del inicio del pico de progesterona, por lo que es de suponer que el muestreo no permitió algún pico de progesterona fisiológicamente relevante o que la progesterona no está directamente involucrada con la presentación de la conducta sexual. Es importante hacer notar que hay un incremento en las concentraciones del estradiol varios días antes de la presentación de la conducta sexual, (27 de febrero), lo que confirma la influencia del estradiol sobre la conducta de cortejo.

A diferencia de las demás hembras, “Jasna” presentó pautas aisladas de conducta proceptiva un mes y medio antes de las cópulas, fechas en las que el estradiol presentaba un ligero incremento. Esta hembra nunca tuvo cachorros, tal vez hubo gestación ya que la concentración de la progesterona se mantuvo elevada durante 17 días y, en tal caso, la hembra podría haber reabsorbido los productos, o bien pudo tratarse de un caso de pseudogestación, frecuente en las hembras de los cánidos (Asa, 1996) lo que se apoya con el hecho que la progesterona no disminuye totalmente en sus concentraciones sino hasta finales del mes de mayo.

En la hembra “Antara” -282- se observaron las cópulas dos semanas después de un primer incremento en la progesterona y de dos a cuatro días antes del segundo incremento en la progesterona; además se observaron aún cópulas en la fecha en que apareció el segundo pico de progesterona. Es importante notar los incrementos en las concentraciones del estradiol que presentó un pico en la semana del 6 de febrero, es decir 9 días antes de la presentación de la conducta sexual y se mantuvo elevado hasta la fecha en que se presentó el pico de progesterona.

También es posible que esta hembra presentara pseudogestación ya que se pudo observar cómo la progesterona se mantiene alta y cómo su disminución se presenta hasta el 29 de abril sin que haya habido parto.

En la hembra “Joy” -517- es muy claro que las cópulas comienzan a observarse de siete a cinco días antes del pico de progesterona, aunque no fue posible observar si hubo algún incremento en el estradiol previo a la conducta sexual, este pudo presentarse antes de que comenzáramos a coleccionar las muestras. En la última etapa reproductiva del presente año se lograron obtener suficientes muestras y se pudo cuantificar el estradiol (Fig. 21)

observándose la presencia de un incremento en el estradiol previo a la presentación de la conducta de cortejo.

El hecho de que la progesterona no actúa sola como responsable de la presentación de la conducta sexual se apoya en que ninguna de las hembras presentó conducta sexual ni durante ni después del último pico importante de progesterona registrado de 20 a 25 días después del incremento que se dio inmediatamente después de la presentación de la conducta sexual.

Por último, la pareja formada por la hembra 445 y el macho 485, no presentó conducta sexual, lo cual probablemente fue debido a que la hembra tenía ovarios y testículos. Pero queda pendiente la cuantificación de los esteroides sexuales. En esta pareja se observó una frecuencia muy alta de movimientos estereotipados (caminar en forma repetitiva) que comúnmente se presentan cuando los niveles de estrés de los animales en cautiverio son muy altos (Lindburg y Fitch-Snyder, 1994).

Exceptuando “Joy”, todas las hembras presentaron movimientos estereotipados. Es importante hacer notar que esta hembra fue la única que tuvo cachorros.

La hembra “Rinty” -433- presenta menores concentraciones de esteroides comparada con el resto de las hembras lo que podría deberse a su edad avanzada y en este caso las conductas que presentó, como el olfateo de los genitales del macho, podrían no estar relacionados con la conducta sexual, sino con el reconocimiento social o inspección de olores poco comunes, o tal vez son un reflejo de los picos de las hormonas que, aunque en bajas concentraciones, se presentaron durante la cuantificación. A diferencia de “La hembra”, quién además de tener una concentraciones muy bajas en las hormonas esteroides, no presentó variaciones durante la temporada de cuantificación, esta hembra es la de mayor edad de todas las hembras estudiadas.

Desafortunadamente la hembra “Valentina” no tuvo pareja durante el estudio ya que ella además de estar en buena edad, sí presentó variaciones importantes y altas concentraciones en las tres hormonas cuantificadas, entonces debería ser tomada en cuenta para la observación de la conducta sexual.

Por otro lado, los esteroides sexuales en los machos también presentan un patrón de incrementos y decrementos en las concentraciones. Los incrementos de testosterona coinciden con incrementos en la progesterona y esto podría explicarse por el hecho de que

la progesterona actúa como una pro hormona en la biosíntesis de la testosterona (Austin, 1975; Norman y Litwack, 1997). O bien que las concentraciones elevadas de progesterona en los machos, podrían deberse quizás a su secreción por parte de las glándulas suprarrenales debido al estrés del cautiverio. (Plotka y cols. 1983).

En el caso de Esdrah y en el macho “158” se observa un patrón hormonal muy irregular si se compara con Tasha, a pesar de que sí presentaron conducta sexual.

Todos los machos presentaron una alta frecuencia de movimientos estereotipados lo cual significa un nivel elevado de estrés (Lindburg y Firch-Snyder, 1994). Recientemente, ha sido reportado que las concentraciones elevadas de cortisol causadas por estrés disminuyen la calidad del semen en el lobo Mexicano (Rivera Rebolledo, 2003). En el caso de Esdrah, efectuamos un análisis de su eyaculado encontrando que este lobo tiene una muy baja calidad del semen, presentando oligospermia con baja motilidad espermática.

En la mayoría de los casos la conducta sexual se presenta como consecuencia de un incremento en las concentraciones de testosterona

El macho “158” presentó conducta sexual completa con la hembra “Antara”, y su buena calidad de semen (Rivera J. A. comunicación personal) lo señala como un buen candidato para reproducción.

Tasha muestra un patrón hormonal muy organizado, y fue el macho que tuvo cópulas fértiles dos años seguidos con la hembra “Joy”.

En el caso del macho Darkus, la presentación de montas tan débiles podría haber estado relacionada con algún problema de salud, ya que falleció por causas desconocidas pocos días después de efectuar las montas.

Lo anterior hace pensar en la importancia de efectuar un estudio del efecto del estrés sobre la reproducción del lobo mexicano, cuantificando el cortisol y haciendo observaciones diarias de conducta.

Para poder establecer con precisión la relación de estos esteroides con cada una de las conductas reproductivas, sería necesario hacer la cuantificación más frecuente de cada uno de los esteroides y no semanalmente como se ha utilizado en todos los trabajos reportados hasta el momento.

Debido a la imposibilidad de cuantificar las concentraciones de LH y de efectuar citología vaginal exfoliativa, en este trabajo no se pudo hacer una descripción de la

secreción de esta gonadotropina y establecer el día exacto de la ovulación. En perras se ha reportado que la ovulación se puede presentar varios días después de la cópula, ya que el esperma puede permanecer vivo en el tracto femenino hasta seis días (Concannon, 1991).

Sería importante efectuar la citología vaginal en coincidencia con la cuantificación de los esteroides en las lobas, aunque se corre el riesgo de provocarles estrés a los animales, lo que daría lugar a probables alteraciones en la secreción de esteroides (Esquivel y cols. 1999).

En las observaciones efectuadas para este trabajo no se encontró un aumento de la conducta de marcaje durante el cortejo, a diferencia de lo reportado por Mech (1970) quien afirma que se presenta un incremento en el marcaje mutuo con orina durante la formación de una pareja para la reproducción. Quizás la diferencia en los resultados se deba a que estos reportes se han hecho en observaciones de lobos grises en condiciones de libertad, donde forman manadas con numerosos miembros, y entonces el marcaje tiene gran importancia en el establecimiento de una pareja determinada, lo mismo sucede con el contacto hocico-hocico entre los miembros de una pareja, conducta que las presentes observaciones no mostró un incremento importante durante la conducta proceptiva, Mech (1997) y Servín (1991) reportan que esta última es una conducta afiliativa durante el cortejo en base a observaciones de grupos mayores, y no en parejas aisladas como es el caso del presente trabajo.

El hecho de que estos animales se encuentren en cautiverio solamente con una pareja puede resultar en una modificación general de su conducta, ya que los lobos son animales predominantemente sociales y acostumbran a formar manadas con jerarquías bien establecidas y con división del trabajo entre los diferentes miembros del grupo.

Es importante mencionar que estos datos son los primeros reportes de la cuantificación de los esteroides sexuales en heces y su relación con la conducta sexual en el lobo mexicano, para lo cual sería muy importante efectuar cuantificaciones por períodos más largos de tiempo abarcando las fechas donde no hay reproducción y así poder establecer con precisión si el marcaje y el contacto hocico-hocico aumentan durante todo el período reproductivo y disminuye el resto del año además también hacer observaciones en grupos de mayor tamaño para determinar la influencia del tamaño de la manada.

La metodología utilizada en el presente trabajo presentó muchas ventajas como son: I) No es invasiva ni requiere de la manipulación de los animales, lo que reduce el estrés y asegura un comportamiento normal en los individuos estudiados, II) es un técnica muy accesible tanto por su fácil uso como por su bajo costo, comparada con técnicas de radioinmunoanálisis y III) No requiere del manejo de radioactividad.

El uso de la metodología descrita permite registrar los perfiles de HES para estimar algunos de los procesos de la biología reproductiva, así como de auxiliar en la detección de probables disfunciones reproductivas sin causar estrés. Esto último, utilizándola paralelamente a observaciones de conducta ayudaría en el conocimiento, manejo y conservación de las especies en estudio.

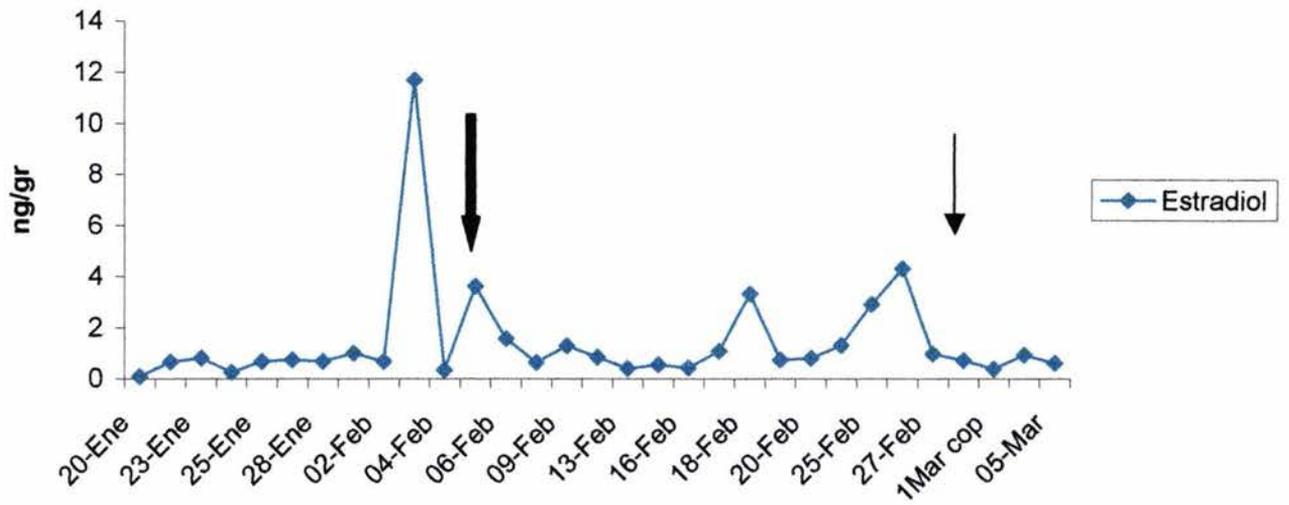


Fig. 21 Patrón de estradiol cuantificado a "Joy" durante el período reproductivo 2004. La flecha gruesa indica el inicio de las conductas proceptivas y la flecha delgada indica el día de la cópula

CONCLUSIONES

A pesar de las limitaciones de la prueba debidas al tiempo de toma de muestras y al escaso número de animales se pudieron obtener datos importantes de la relación entre los niveles hormonales y la expresión de varias conductas que aunque preliminares, dan una importante base para estudios posteriores de endocrinología de la conducta sexual en el lobo mexicano.

La mayor parte de las parejas estaban muy bien acopladas durante el ciclo reproductivo, lo que llevó a la presentación de cópulas.

El patrón hormonal tanto de las hembras como de los machos se presenta con una serie de aumentos y decrementos en las concentraciones.

La conducta proceptiva se observa claramente como una consecuencia del incremento del estradiol en las hembras y de testosterona en los machos.

Las conductas proceptivas comenzaron a presentarse varios días antes de las cópulas.

Los machos presentaron una mayor frecuencia de conductas proceptivas que las hembras.

A pesar de que los eventos de cortejo fueron muy numerosos durante el período reproductivo muy pocas montas culminaron en cópula.

En la mayoría de los casos falló la gestación, pero probablemente se debió a problemas de salud como por ejemplo, el caso de la oligospermia de "Esdrah y las condiciones de Antara. Aunado a la muerte del macho "Darkus".

Las conductas de cortejo en general se presentaron después del primer pico de estradiol.

En estudios posteriores se deberá abarcar un mayor período de tiempo para la cuantificación de los esteroides.

Además es necesario hacer un estudio de estrés utilizando la cuantificación de cortisol paralela a observaciones de conducta.

Sería muy interesante que los lobos fueran mantenidos en grupos con un mayor número de miembros, de modo de alterar lo menos posible su conducta.

Una propuesta es que este estudio se efectúe en paralelamente en perros, de aquellos aspectos que se desconocen, ya que es más fácil obtener un número mayor de animales y además se podrían llevar a cabo algunas manipulaciones imposibles de hacer en lobos, además se pueden hacer cuantificaciones en sangre y en heces al mismo tiempo de modo de poder comparar las diferencias en las concentraciones. Esto permitiría emitir algunas conclusiones que pudieran dar información aplicable al lobo.

Es muy importante efectuar este tipo de estudios en los que se incluya la cuantificación hormonal por métodos indirectos de manera paralela a observaciones de conducta, ya que ello además de ampliar el conocimiento de la reproducción de la especie, facilitaría la detección de problemas reproductivos y al mismo tiempo es un método que puede ayudar en los programas de recuperación de las especies en extinción.

ANEXO

TECNICA DE INMUNOENSAYO ENZIMÁTICO

La cuantificación de hormonas esteroides sexuales por métodos indirectos, como el análisis a partir de heces fecales o de orina en animales silvestres y de zoológicos puede ser muy útil para hacer estudios en ecología conductual, fisiología ecológica, psicología fisiológica, biomedicina y biología de la conservación (Wasser, y cols. 1991).

Existen también reportes de los patrones estacionales de metabolitos de esteroides (estrógenos, testosterona, y progesterona) en el ganso, que revelan una relación entre el género y el status social (Hirshenhauser y cols. 1997, 1999, 2000, Kotrschal 1998).

Los cánidos son en su mayoría animales de reproducción estacional, y hay diversos reportes que describen variaciones anuales en la secreción hormonal en estas especies (Seal, 1979, Velloso, 1998, Asa, 1999). Además

Velloso y cols. (1998) reporta en un estudio haber efectuado un análisis de las variaciones hormonales entre los dos sexos del lobo de crin sudamericano

(*Chrysocyon brachyurus*), estableciéndose así una técnica posible para llevar a cabo el sexado de animales cuyo género no haya sido posible establecer al recoger las muestras.

Los patrones de la secreción hormonal pueden ser usados para detectar y/o caracterizar los eventos reproductivos, el sexo y quizás el status social en diferentes especies.

Tradicionalmente la cuantificación hormonal se ha efectuado a partir de muestras de sangre, pero esta técnica implica un alto riesgo al atrapar al sujeto a estudiar y el intenso estado de estrés que se genera en el animal pone en riesgo su vida (Junge 1966, citado en Blanvillain y cols. 1997) por otra parte, se ha reportado que el estrés de la captura y manipulación induce la secreción excesiva de Progesterona adrenal en cérvidos (Plotka, y cols. 1983), lo que alteraría los resultados obtenidos. Además, la cantidad de tiempo que se invierte en insertar cánulas en los vasos sanguíneos del animal y la dificultad para que estos se mantengan fijos en su lugar hacen más necesaria la utilización de métodos indirectos para obtener los perfiles hormonales. Esto ha traído avances metodológicos muy importantes (Palme y Möstl, 1993 citado en Hirschenhauser, 2000). La aproximación no invasiva ha ganado importancia recientemente para el estudio de especies silvestres (Wasser y cols. 1993, Whitten y cols. 1998, citado en Hirschenhauser, 2000). Este tipo de

estudios se ha llevado a cabo comúnmente en cérvidos (Blanvillain y cols. 1997, Schwartz y cols. 1995), en primates no humanos (Wasser 1994, Bamberg E. et al 1991, Shideler y cols. 1993) en caballos salvajes (Kirpatrick y cols. 1990), en ungulados como el caribú (Messier y cols. 1990), en el Lobo de crin sudamericano (Velloso y cols. 1998), en diversos tipos de aves (Hirschenhauser, E.M., y cols. 2000, Bishop y Hall, 1991 Cockrem y Rounce, 1994) y recientemente en la zorra fennec (Valdespino y cols. 2002)

El uso de la técnica a partir de la orina es muy útil pero también representa problemas, como tener que sustraer la orina que el animal acaba de depositar en la tierra, lo que implica pérdida de tiempo. Ciertos tipos de tierra pueden interferir con algunas pruebas hormonales, aunque en este caso no es necesario efectuar extracción de los esteroides (Kirpatrick y cols. 1990). Por lo tanto es más adecuado usar las heces fecales, que son fáciles de obtener, y que contienen una buena cantidad de hormonas sexuales y sus metabolitos. Existen reportes de que algunos primates no humanos, por ejemplo, excretan esteroides sexuales principalmente por heces más que por orina. (Shideler y cols. 1993)

Una técnica usada para cuantificar las hormonas esteroides es la prueba de enzima-Immunoensayo (EIA). Esta prueba es un método inmunoquímico que se diseñó para cuantificar tanto proteínas como esteroides, y trabaja bajo el principio de una unión competitiva de un anticuerpo con su antígeno correspondiente. Aquí las moléculas a cuantificar van a actuar como antígenos. En el EIA las placas contienen delgadas capas de un gel inmunoabsorbente (agarosa usualmente) en las cuales el Anticuerpo se incorpora firmemente y se mantiene así gracias a un buffer que tiene un pH correspondiente al punto isoelectrico del anticuerpo. Los kits del EIA incluyen muestras estándares con concentraciones conocidas de la hormona en cuestión. Esto con el fin de generar una curva estándar, ya que es importante que la interpolación de las curvas hechas con las muestras estándar y con las muestras desconocidas den cuerpos de morfología idéntica.

La prueba también incluye unos antígenos que unidos a un trazador, una enzima marcada con un colorante que cambia la densidad óptica.

Las moléculas a cuantificar compiten con los antígenos marcados para unirse a los anticuerpos de la prueba y así formar complejos Antígeno-Anticuerpo. Al agregar gran cantidad de antígenos de la muestra desconocida, estos desplazarán a los antígenos

marcados de la prueba; así, al ser leído el gradiente de color por un espectofotocolorímetro, indicará la concentración de la muestra desconocida.

BIBLIOGRAFIA

- Adams D.B., A.R. Gold y A.D. Burt (1978) Rise in female initiated sexual activity at ovulation and its suppression by oral contraceptives. *New Engl. J. Med.* 229:1145-1150.
- Allen D.L. (1996) *Wolves of Minong. Isle Royale's Wild Community.* The University of Michigan Press. U.S.A. 481pp.
- Aronson L. R. y M. L. Cooper (1968) Desensitization of the glans penis and sexual behavior in cats. En: Diamond M. (ed.) *Reproduction and sexual behavior.* Indianápolis Indiana University Press. pp:51-82
- Asa Ch. (1984) The effect of estradiol and progesterone on the sexual behavior of ovariectomized mares. *Physiol. Behav.* 33:681-686.
- Asa Ch. (1996) Reproductive physiology. En: Holly, S H., D.G. Kleiman, M.E. Allen, K.V. Thompson y S. Lumpkin, (eds.) *Wild mammals in captivity. Principles and techniques.* The University of Chicago Press. Chicago U.S.A. pp: 390-417.
- Asa Ch. (1999) Dogs (Canidae) En: Knobil E. y J.D. Neill (eds.) *Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press. N.Y. pp.80-87.
- Asa Ch., U.S. Seal, E. Plotka, M.A. Letellier y D. Mech (1986) Effect of anosmia on reproduction in male and female wolves (*Canis lupus*) *Behav. and Neur. Biology* 46:272-284.
- Asa Ch., L.D. Mech, U.S. Seal y E.D. Plotka (1990) The influence of social and endocrine factors on urine-marking by captive wolves (*Canis lupus*). *Horm. Behav.* 24:497-509.
- Asa Ch. y L.D. Mech (1996) A review of the sensory organs in wolves and their importance to life history. En L. Carbin, S.H. Fritts, y D.R. Seip (eds.) *Ecology and Conservation of Wolves in a Changing world,* Canadian Circumpolar Institute: Edmonton Canada. 287-291.
- Asa Ch. y C. Valsespino (1998) *Canid reproductive Biology: integration of proximate mechanisms and ultimate causes.* *Am. Zool.* 38:251-259.
- Austin C.R. y R.V. Short (1975) *Hormones in reproduction.* Cambridge University Press. New York. 143 pp.

- Ayala-Cano, S. G. (2000) Desarrollo de una metodología para determinar los niveles de hormonas esteroides (P4, T, E2) en excretas de la población de borrego cimarrón (*Ovis canadiensis cremnobates*) en la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México. 69 pp.
- Bamberg, E., G.J. King, G. Von Hegel, M. Patzi y E. Möstl (1991) Pregnancy diagnosis by enzyme immunoassay of estrogens in feces from nondomestic species J. Zoo. wildlife Med. 22:73-77.
- Barfield, R.J. y L.A. Geyer (1975) The ultrasonic postejaculatory refractory period of the male rat. J. Comp. Physiol. Psychol. 88:723-734.
- Beach F.A. (1970) Sexo y conducta. SigloXXI editores, S.A. 416 pp.
- Beach F.A. (1976) Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. Horm. and Behav., 7:105-138.
- Beach F.A. y R.W. Gilmore (1949) Response of male dogs to urine from females in heat. J. Mammalia 30:391-392.
- Beach F.A. y A.M. Holz-Tucker (1949) Effects of different concentrations of androgen upon sexual behavior in castrated male rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 421:433-453.
- Beach F.A. y G. Levinson (1950) Effects of androgen on the glans penis and mating behavior of castrated male rats. J. Exp.Zool. 114:159-171.
- Beach F.A. y B.J. Leboeuf (1967) Coital behavior in dogs. I. Preferential mating in the bitch. Anim. Behav 15:546-558.
- Beach F.A. y A. Merari (1968) Coital behavior in dogs. IV Effects of progesterone in the bitch. Proc. Natl. Acad. Sci., 61:442-444
- Beach F.A. y A. Merari (1970) Coital behavior in dogs. V Effects of estrogen and progesterone on mating and other forms of social behavior in the bitch. J. Comp. Physiol. Psychol.70:1-22.
- Bell, D.J. (1980) Social olfaction in lagomorphs. Symp. Zool. Soc. Lond.45:141-163
- Bernal, J. F. y J. M. Packard (1997) Differences in winter activity, courtship and social behavior of two captive family groups of Mexican wolves (*Canis lupus baileyi*). Zoo Biol. 16:435-443.
- Bernstein H., H.C. Byerly, F.A. Hopf y R.E. Michod (1985) Genetic damage, mutation and the evolution of the sex. Science 229:1277-1281.

- Beyer, C. y P. McDonald (1973) Hormonal control of sexual behavior in the female rabbit. *Adv. Reprod. Physiol.* 6:185-219.
- Beyer, C., N. Vidal y A. Mijares (1971) Probable role of aromatization in the induction of estrous behavior by androgen in the ovariectomized rabbit. *Endocrinology* 87:1386-89.
- Bishop C.M. y M.R. Hall (1991) Non-invasive monitoring of avian reproduction by simplified faecal steroid analysis. *J. Zool. Lond.* 224: 649-668.
- Blanvillain, C., J.L. Berthier, M.C. Bomsel-Demontoy, A.J. Sempéré, G. Olbricht y F. Schwarzenberg (1997) Analysis of reproductive data and measurement of fecal progesterone metabolites to monitor the ovarian function in the Pudu, *Pudu puda* (*Artiodactyla, Cervidae*). *Mammalia* 61:589-602.
- Blaustein, J. D. y G. N. Wade (1977) Sequential inhibition of sexual behavior by progesterone in female rats: Comparison with a synthetic antiestrogen. *J. Comp. Physiol. and Psychol.* 91:752-760.
- Brown, J.L., S.K. Wasser, D.E. Wildt, y L.H. Graham (1994) Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured noninvasively in feces. *Biol. Reprod.* 51:776-786.
- Bullock, T.H. (1984) Comparative Neurosciences holds promise for quiet revolutions. *Science* 225:473-478.
- Carpenter, C.R. (1942) Sexual behavior in free ranging rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), I. Specimens, procedures, and behavioral characteristics of estrus. *J. Comp. Physiol.* 33:113-142.
- Carr, W.J., L.S. Loeb y M.L. Dissinger (1965) Responses of rats to sex odors. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 59:370-377.
- Christensen, L.W. y L.G. Clemens (1975) Blockade of testosterone induced mounting behavior in the male rat with intracranial application of the aromatization inhibitor. androst-1,4,6-triene-3,17-dione. *Endocrinol.* 97:1545-1551.
- Christie, D.W., y E.T. Bell (1971) Endocrinology of the estrous cycle of the bitch. *J. Small Anim. Pract.* 12: 383-389.
- Chunwang L., J. Zhigang, J. Guohua y F. Jiming (2001) Seasonal changes of reproductive behavior and fecal steroids concentrations in Père David's deer. *Horm. and Behav.* 40:518-525.
- Ciaccio, L.A., y R.D. Lisk (1968) Central control of estrous behavior for the spayed golden hamster: Estrogen sensitivity within the hypothalamus. *Am. Zool.* 8:761.

- Clark, A.S., L.A. Davies, y E.J. Roy (1985) A possible physiological basis for the dud-stud phenomenon. *Horm. Behav.* 19:227-230
- Concannon P.W., W. Hansel, y W.J. Visek (1975) The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol. Reprod.* 13:112-121.
- Concannon P.W., B. Hodgson y D. Lein (1980) Reflex LH release estrous cat following single and multiple copulations. *Biol. Reprod.* 23:11-117.
- Concannon P.W. (1991) Reproduction in the Dog and Cat. En: Cupps, P.T. (ed.) *Reproduction in Domestic Animals*. Fourth Edition. Academic Press. U.S.A. pp: 517- 553.
- Cooper K.K., y L. Aronson (1974) Effects of castration on neural afferent responses from the penis of the domestic cat. *Physiol. behav.* 12:93-107.
- Crews, D. y R. Silver (1992) Reproductive physiology and behavior interactions in nonmammalian vertebrates. En N.T. Adler (ed.), *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Vol.7 pp.101-182, New York. pp.101-182.
- Crews, D. (1992) Behavioural endocrinology and reproduction: an evolutionary perspective. En: Milligan S.R. (ed.) *Oxford Reviews of Reproductive Biology* Vol.14 Oxford University Press, New York. pp.304-370.
- Cockrem J.F., y J.R. Rounce (1994) Fecal measurements of oestradiol and testosterone allow the non-invasive estimation of plasma steroid concentrations in the domestic fowl. *Br. Poultry Sci.* 35:433-443.
- Curlewis J.D., A.S. Loudon, y A. Coleman (1988) Oestrus cycles and the breeding season of the pére David's deer hind (*Elephurus davidianus*) *J. Reprod. Fertil.* 82:119-126.
- Davidson, J.M. (1966) Activation of the male rat's sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. *Endocrinology* 84:1365-1372.
- Denenberg, V.H., M.X. Zarrow y S. Ross (1969) The behavior of rabbits. En: E.S.E. Hafez (ed.) *The behavior of domestic animals*. Williams and Wilkins, Baltimore. pp.417-437.
- Dewsbury, D.A . (1979) Description of sexual behavior in research on hormone-Behavior interactions. En C. Beyer (ed.) *Endocrine Control of Sexual Behavior* Raven Press, New York. pp.3-32
- Emery D.E., y R.L. Moss (1984) Lesions confined to the ventromedial hypothalamus decrease the frequency of coital contacts in female rats. *Horm. Behav.* 18:313-329.

- Erkshine, M.S. (1989) Solicitation behavior in the estrous female rat: A review. *Horm. Behav.* 23:473-502.
- Esquivel-Lacroix, C. F. y R. M. Páramo (2001) Eventos endocrinos del ciclo estral de la perra y fármacos utilizados como anticonceptivos y abortivos. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Veterinaria especializada en Pequeñas Especies (AMMVEEPE)* 12:6-9.
- Feldman, E.C., y R.W. Nelson (1987) *Canine and Feline endocrinology and reproduction*. Saunders, Philadelphia. 458 pp.
- García Moreno, J., M. D. Matocq, M. S. Roy, E. Geffen, y R. K. Wayne (1996) Relationships and genetic purity of the endangered Mexican Wolf based on analysis of microsatellite loci. *Conserv. Biol.* 10:376-387.
- Giantonio, G.W., N.L. Lund, y A.A. Gerall (1970) Effect of Diencephalic and Rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior. *J. Comp. Physiol. and Psychol.* 73:38-46.
- González-Mariscal G., A.I. Melo y C. Beyer (1993) Progesterone, but not LHRH or prostaglandin E2, induces sequential inhibition of lordosis to various lordogenic agents. *Neuroendocrinology* 57:940-945.
- Gordon, T. P., R.M. Rose. y I.S. Bernstein (1976) Seasonal rhythms in plasma testosterone levels in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*): A three year study. *Horm. Behav.* 7:229-243.
- Glaser, J.H., B.S. Rubin y R.J. Barfield (1983) Onset of the receptive and proceptive components of feminine sexual behavior in rats following the intravenous administration of progesterone. *Horm. Behav.* 17:18-27.
- Grooms, S. (1999) *Return of the wolf*. Northword Press. Minnesota. 189pp.
- Harder, J.D. y D.L. Moorhead (1980) The development of corpora lutea and plasma progesterone levels associated with the onset of the breeding season in the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) *Biol. Reprod.* 22:185-191.
- Hart B.L. (1974) The medial preoptic-anterior hypothalamic area and sociosexual behavior of male dogs: A comparative neuropsychological analysis. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 86:328-349.
- Hamilton W.D., P.A. Henderson y N.A. Morán (1981) Fluctuation of environment and coevolved antagonist polymorphism as factors in the maintenance sex. En R.D. Alexander y D.W. Tinke (eds.) *Natural Selection and Social Behavior*. New York: Chiron Press. pp. 125-131..

- Harrington F.H. y L.D. Mech (1978) Howling at two Minnesota wolf pack summer home sites. *Can. J. Zool*, 56:2024-2028.
- Hirschenhauser K., J. Dittami, E. Möstl, B. Wallner y K. Kotrschal (1997) Testosterone and Behavior during different phases of reproduction in greylag geese (*Anser anser*) En: M. Taborsky y B. Taborsky (eds.) *Advances in Ethology* Vol.2 p.61.
- Hirschenhauser K., Möstl E. y K. Kotrschal (1999) Seasonal patterns of sex steroids determined from feces in different social categories of Greylag Geese (*Anser anser*) *Gen. Comp. Endocrinol.* 114:67-69.
- Hirschenhauser K., E. Möstl, P. Péczely, B. Wallner, J. Dittami, y K. Kotrschal (2000) Seasonal relationships between plasma and fecal testosterone in response to GnRH in domestic ganders. *Gen. Comp. Endocrinol.* 118:262-272.
- Hirschenhauser K., E. Möstl y K. Kotrschal (1999) Seasonal patterns of Sex steroids determined from feces in different social categories of Greylag Geese (*Anser anser*) *Gen. Comp. Physiol. Psychol.* 114:67-69.
- Jainudeen M.R., C. B Katongole, y R.V . Short (1972) Plasma testosterone levels in relation to musth and sexual activity in the male Asiatic elephant (*Elephas maximus*). *J. Reprod. Fertil.* 29:99-103.
- Jones E. D. y J. O. Joshua (1984) *Problemas Clínicos de la Reproducción Canina*. El Manual Moderno 222 pp.
- Johnson R. D. y Z. Halata (1991) Topography and ultrastructure of sensory nerve endings in the glans penis of the rat. *J. Comp. Neurol.* 312:299-310.
- Johnson R.D., R.L. Kitchell y H. Gilanpour (1986) Rapidly and slowly adapting mechanoreceptors in the glans penis of the cat. *Physiol. Behav.* 37:69-78.
- Joshi, H.S., D.F. Watson y A.P. Labhsetwar (1976) Ovarian secretion of Oestradiol, Oestrone, 20- α -dihydroprogesterone and progesterone during estrous cycle of the guinea pig. *J. Reprod. Fertil.* 35:177-181.
- Joslyn, W.D., H.H. Feder y R.W.Goy (1971) Estrogen conditioning and progesterone facilitation of lordosis in guinea pigs. *Physiol. Behav.* 7:477-482.
- Kenelly J.J., y B.E. Johns (1976) The estrous cycle of coyotes. *J. Wild. manage.* 40:272-277.
- Kennedy, G.C., (1964) Hypothalamic control of the endocrine and behavioral changes associated with oestrus in rat. *J. Physiol. (Lond.)* 166:395-407.

- Kirkpatrick, J.F., S.E. Shideler y J.W. Turner (1990) Pregnancy determination in uncaptured feral horses based on steroid metabolites in urine-soaked snow and free steroids in feces. *Can. J. Zool* 68:2576-2579.
- Kow L.M., M.O. Montgomery y D.W. Pfaff (1979) Triggering of lordosis reflex in female rats with somatosensory stimulation: Quantitative determination of stimulus parameters. *J. Neurophysiol.*42:195-202.
- Kotrschal K., K. Hirschenhauser, y E. Möstl (1998) Dominance and Stress is seasonal in greylag geese. *Anim. Behav.* 55:171-176.
- Larsson, K. (1979) Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. En: C. Beyer (ed.) *Endocrine Control of Sexual Behavior*. Raven Press, New York. 77-163.
- Lehman M.N. y S.S. Winans (1982) Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamsters sexual . *Autoradiographic and Behavioral Analysis. Brain Res.* 240:27-41
- Lindburg D.G. y H. Fitch-Snyder (1994) Use of behavior to evaluate reproductive problems in captive mammals. *Zoo. Biol.* 13:433-445.
- Maier R., (2001) *Comportamiento animal: Un enfoque evolutivo y ecológico*. McGraw Hill Madrid, España. 324 pp.
- Masters W., y V.E. Johnson (1978) *Respuesta Sexual Humana*. Editorial Intermédica, Buenos Aires. 325 pp.
- McGinnis M.Y., B. Parsons, T.C. Rainbow, L.C. Krey y B.S. McEwen (1981) Temporal relationship between cell nuclear progesterone receptor levels and sexual receptivity following intravenous progesterone administration. *Brain Res.*, 218:365-371.
- McMillan J.M., U.S. Seal, K.D. Keenline, A.W. Erickson, y J.E. Jones (1974) Annual testosterone rhythm in the adult white-tailed deer (*Odocoileus virginianus borealis*). *Endocrinol.* 94:1034-40.
- Mech L.D. (1999) Alfa status, dominance, and division of labor in wolf packs *Can. J. Zool.* 77:1196-1203.
- Mech L.D. (2000) *The Wolf The ecology and behavior of endangered species*. Tenth printing. University of Minnesota Press. Minneapolis, U.S.A.
- Meisel R. L. y B. D. Sachs (1994) The physiology of male sexual behavior in: E. Knobil and J.D. Neill (eds.) *The Physiology of Reproduction*. Second ed. Raven Press. New York. pp: 3-106.

- Michael R.P. (1961) Observations upon the sexual behavior of the domestic cat (*Felis catus*) under laboratory conditions. *Behav.* 18:1-24.
- Michael, R.P., y G.S. Saayman. (1968) Individual differences in the sexual behavior of male rhesus monkey (*Macaca mulatta*) under laboratory conditions. *Anim. Behav.*, 15:460-466.
- Michael, R.P. y R. Bonsall. (1979) Hormones and the sexual behavior of Rhesus Monkeys. In: C. Beyer (ed.) *Endocrine control of sexual behavior*. Raven Press New York. pp: 279-302.
- Mickelsen, W.D., L.G. Paisley y J. J. Dahmen. (1981) Seasonal variations in scrotal circumference, sperm quality, and sexual ability in rams. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 181:376-380.
- Monfort, S.L., S.K. Wasser, M. Burke, B.A. Brewer, y S.R. Creel (1997) Steroid metabolism and validation of noninvasive endocrine monitoring in the African Wild dog (*Lycaon pictus*). *Zoo. Biol.* 16:533-548.
- Moralí, G. y C. Beyer (1979) Neuroendocrine control of mammalian estrous behavior. En C. Beyer (ed.), *Endocrine Control of Sexual Behavior* Raven Press, New York. pp.33-76
- Moulton, D.G. (1967) Olfaction in mammals. *Am. Zool.* 7:421-429.
- Nelson, R.J. (1995) *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. Sinauer Associates Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 611 pp.
- Norman A.W. y Litwack, G. (1997) *Hormones*. Academic Press. New York. 558 pp.
- Nowak, R.M., (1978) Evolution and taxonomy of coyotes and related canis in: Bekoff M. (ed.) *Coyotes biology, behavior and management*. Ac. Press New York pp. 3-16.
- Peretz, E. (1968) Estrogen dose and the duration of mating period in the cats. *Physiol. Behav.* 3:41-43,.
- Peters R., (1980) "Mammalian Communication". Brook/Cole Pub. Co Monterey, California. 244 pp.
- Peterson R.O. (1995) *The Wolves of Isle Royal*. Willow Creek Press. Wisconsin U.S.A. 189pp.
- Pfaff, D.W., y L.C.A. Conrad (1978) Hypothalamic Neuroanatomy: Steroid hormone binding and patterns of axonal projections. *Int. Rev. Cytol.* 54:245-265.

- Pfaff, D.W., y L.C.A. Conrad (1978) Hypothalamic Neuroanatomy: Steroid hormone binding and patterns of axonal projections. *Int. Rev. Cytol.* 54:245-265.
- Pfaff, D.W., S. Schwartz-Giblin, M.M. McCarthy y L.M. Kow. (1994) Cellular and Molecular Mechanisms of female reproductive behaviors. En E. Knobil y J. Neill (eds.) *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp.107-220.
- Phoenix, C.H., R.W. Goy, A.A. Gerall y W.C. Young. (1959) Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 65:369-382.
- Plant, T.M. (1988) Puberty in primates. En: *The physiology of reproduction*. E. Knobil y J. Neil (eds) Raven Press. New York. 1763-1788.
- Plotka, E.D., U.S. Seal, L.J. Verme y J.J. Ozaga (1983) The adrenal gland in White-tailed deer: a significant source of progesterone. *J. Wildl. Manage.* 47:38-44.
- Powers, J.B. (1970) Hormonal control of sexual receptivity during estrous cycle of the rat. *Physiol. Behav.* 5:831-835.
- Racey, P.A., (1974) The reproductive cycle in male noctule bats, *Nyctalus noctula*. *J. Reprod. Fertil.* 41:169-82.
- Ramirez, V. D. y C. Beyer. (1988) The ovarian cycle of the rabbit. It's neuroendocrine control. En: Knobil E. y Neill J. (eds.) *The physiology of reproduction*. Raven Press. New York. 585-612.
- Raymer J.D., D. Wiesler, M. Novotny, C. Asa, U.S. Seal y L.D. Mech. (1984) Volatile constituents of wolf (*Canis lupus*) urine as related to gender and season. *Experientia* 40:707-709.
- Raymer, J., D. Wiesler, M. Novotny, C. Asa, U.S. Seal y L.D. Mech. (1986) Chemical scent constituents in urine of wolf (*Canis lupus*) and their dependence on reproductive hormones. *J. Chem. Ecol.* 12:297-314.
- Resko, J.A., M.J. Koering., R.W. Goy y C.H. Phoenix (1975) Preovulatory progestins: Observations on their source in the rhesus monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41:120-125.
- Rivera J. A. (2003) Efecto del estrés sobre la calidad del semen del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Tesis de Maestría. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México. 101pp.
- Rothman, R.J. y L.D. Mech (1979) Scent-marking in lone wolves and newly formed pairs. *Anim. Behav.* 27:750-760.

- Rubin, B.S., y R.J. Barfield (1983) Progesterone in the ventromedial hypothalamus facilitates estrous behavior in ovariectomized estrogen-primed rats. *Endocrinology* 113:797-804.
- Sachs, B. D. y R. L. Meisel. (1988) The physiology of male sexual behavior. En E. Knobil y J. Neill (eds.), *The Physiology of Reproduction* Raven Press, New York. pp:1393-1485.
- Saayman, G.S. (1970) The menstrual cycle and sexual behavior in a troop of free-ranging chacma baboon (*Papio ursinus*). *Folia Primat.* 17:297-303.
- Saayman, G.S. (1972) Effects of ovarian hormones upon the sexual skin and mounting behavior in the free-ranging chacma baboon (*Papio ursinus*). *Folia Primat.* 17:297-303.
- Salame-Méndez, A. R.M. Vigueras,-Villaseñor, J.R. Herrera-Muñoz, E. Mendieta-Márquez, I.H. Salgado-Ugarte, A. Castro-Campillo y J. Ramírez-Pulido. (2003) Inmunolocalización y contenido de esteroides sexuales en ovarios de hembras de *Peromyscus melanotis* Allen y Chapman, 1987 (*Rodentia :muridae*) durante la primera mitad de la preñez. *Acta zool. Mex.* (n.s.) 88:43-57.
- Sawyer, C.H. y J.W. Everett. (1959) Stimulatory and inhibitory effects of progesterone on the release of pituitary ovulating hormone in the rabbit. *Endocrinol.* 65:644-651.
- Scalia, F. y S.S. Winans (1976) New perspectives on the morphology of the olfactory system: Olfactory and vomeronasal pathways in mammals. En: R. L. Doty (ed.) *Mammalian olfaction, reproductive processes and behavior.* Academic Press New York. pp. 7-28.
- Servín, J. (1991) Algunos aspectos de la conducta social del lobo Mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 45:43-46.
- Servín J. (1993) Lobo ¿Estas ahí? *Ciencias* 32:3-10.
- Servín, J. (1997) El período de apareamiento, nacimiento y crecimiento del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). *Acta Zoológica Mexicana* (n.s.)45:43-46.
- Servín J. (2000) Duration and frequency of chorus howling of the Mexican Gray Wolf (*Canis lupus baileyi*). *Acta Zool. Mex.* (n.s.) 80:223-231.
- Seal. U.S., E.D. Plotka, J.M. Packard, J.M. y L.D. Mech. (1979) Endocrine correlates of reproduction in the wolf. *Biol. Reprod.*21:1057-1066.
- Sherwing, B.B. y M.M. Gelfand (1985) Sex steroids and affect in surgical menopause: A double-blind cross-over study. *Psychoneuroendocrinology* 10:325-335.

- Schwartz, C.C., S.L. Monfort, P.H. Dennis y K.J. Hundertmark (1995) Fecal progesterone concentration as an indicator of the estrous cycle and pregnancy in moose. *J. Wildl. Manage.* 59:580-583.
- Siminsky, P. (2003) International studbook for the Mexican Gray Wolf. Arizona-desert museum, Tucson, Arizona. U.S.A. 125 pp.
- Twigg D.G., H.B. Popolow, y A.A. Gerall (1978) Medial Preoptic lesions and male sexual behavior: Age and environmental interactions. *Science* 200:1414-1415.
- Udry, J.R., y N.M. Morris (1968) Distribution of coitus in the menstrual cycle. *Nature (Lond)*, 220:593-596.
- Valdespino C., Ch. Asa y J. Bauman (2002) Estrous cycles, copulation and pregnancy in fennec fox (*Vulpes cerda*). *J.Mammal.* 83:99-109.
- Velloso, A.L., S.K. Wasser, S.L. Monfort y D.M. James. (1998) Longitudinal fecal steroid excretion in maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*). *Gen. Comp. Endocr.* 112:96-107.
- Villa B. (1960) Combate contra los coyotes y los lobos en el Norte de México. *An. Inst. Biol.* XXIII:163-198.
- Ville, C., E. P. Solomon, L. R. Berg y D. W. Martin (1998) *Biología* 4ª ed. McGraw Hill Interamericana. pp.660-668.
- Wallen, K., L.A. Winston, S. Gaventa, M. Davis-DaSilva y D.C. Collins. (1984) Periovarian changes in female sexual behavior in group-living rhesus monkeys. *Horm. Behav.* 18:431-450.
- Wasser, S.K., R. Thomas, P.P. Nair, C. Guidry, J. Southers, J. Lucas, D.E. Wildt y S. L. Monfort (1993) Effects of dietary fibre on fecal steroid measurements in baboons (*Papio cynocephalus*) *J. Reprod. Fertil.* 97:569-574.
- Wasser, S.K., S.L. Monfort, y D.E. Wildt (1991) Rapid extraction of fecal steroids for measuring reproductive cyclicity and early pregnancy in free ranging yellow baboons (*Papio cynocephalus cynocephalus*) *J. Reprod. Fertil.* 92:415-423.
- Whalen, R.E. (1963) Sexual behavior of cats. *Behaviour.* 20:321-342.
- Whalen R.E. y D.F. Hardy (1970) Induction of receptivity in female rats and cats with estrogen and testosterone. *Physiol. Behav.* 5:529-533.

- Whalen R.E. y D.F. Hardy (1970) Induction of receptivity in female rats and cats with estrogen and testosterone. *Physiol. Behav.* 5:529-533.
- Wingfield , J.C., C.S. Whaling y Marler P. (1994) Communication in Vertebrate Aggression and Reproduction: The Role of Hormones. In: Knobil, E., Neill, J.D.(eds.) *The Physiology of Reproduction*. 2° ed. Raven Press. New York. pp.303-342.
- Wildt, D.E., W.B. Panko, P.K. Chakraborty y S. W. J. Seager (1979) Relationship of Serum estrone, estradiol-17 and progesterone to LH, sexual behavior and time ovulation in the bitch. *Biol. Reprod.* 20:648-658.
- Yamanouchi, K. y Y. Arai (1980) Inhibitory and facilitatory neural mechanisms involved in the regulation of lordosis behavior in female rats: Effects of dual cuts in the preoptic area and hypothalamus. *Physiol. Behav.* 25:721-725.
- Young, W.C. (1969) Psychobiology of sexual behavior in the guinea pig. In: D.S. Lehrman, R.A. Hinde y E. Shaw (eds). *Advances in the study of behavior* Academic Press, New York. pp:1-110.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth Edition. Prentice Hall. N.J. U.S.A. 123pp.
- Ziegler, T.E., S.A. Sholl, G. Sheffler, M.A. Haggerty, y B.L. Lasley (1988) Excretion of estrone, estradiol and progesterone in the urine and feces in the female cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus oedipus*) *Am. J. Primatol.* 17:185-195.
- Zucker, I. y R. W. Goy (1967) Sexual receptivity in the guinea pig: Inhibitory and facilitatory actions of progesterone and related compounds. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 64:378-383