



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"PARTICIPACIÓN DE LA GLÁNDULA PINEAL SOBRE
LA EXPRESIÓN DEL RITMO CIRCADIANO
DE ACTIVIDAD LOCOMOTORA EN LA LAGARTIJA
Sceloporus torquatus"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
JOSÉ DE JESÚS CORONA LAGUNAS



FACULTAD DE
CIENCIAS

DIRECTOR DE TESIS:
DR. MANUEL MIRANDA ANAYA

2004



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA 14
MEXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: José de Jesús

Corona Lagunas

FECHA: 15 Nov. 04

FIRMA: 

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Participación de la glándula pineal sobre la expresión del ritmo circadiano de actividad locomotora en la lagartija *Sceloporus torquatus*".

realizado por José de Jesús Corona Lagunas

con número de cuenta 8626930-8 , quien cubrió los créditos de la carrera de:
Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Manuel Miranda Anaya

Propietario Dr. René Cárdenas Vázquez

Propietario Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz

Suplente Dra. Pilar Durán Hernández

Suplente Biól. Mónica Salmerón Estrada

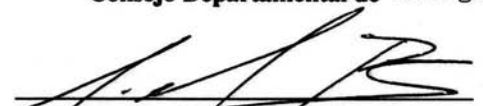


FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Consejo Departamental de Biología


M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

A

“YO SOY”

ESPERANDO QUE LA CIENCIA ACTUAL NO DISTORCIONE LA VERDAD.





A TI PAPÁ, CON AMOR. COMO SÍMBOLO Y MUESTRA DE NUESTROS ESFUERZOS Y LOGROS EN LA VIDA, PUES SOY PERFECTAMENTE CONSCIENTE DE QUE HAS SIDO TÚ EL QUE ME HA FORMADO, ME HA MOLDEADO Y HA HECHO DE MÍ LO QUE SOY. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A TI MAMÁ CON AMOR. COMO PROLONGACIÓN DE TU REALIZACIÓN COMO MADRE, PUES HA SIDO CON TUS CUIDADOS Y ATENCIONES QUE HE PODIDO LLEGAR HASTA ESTE MOMENTO. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A USTEDES DOS, PADRES MÍOS, A QUIENES AGRADEZCO INFINITAMENTE TODO SU AMOR FILIAL, DEL CUAL, ESTE LIBRO ES CONCRECIÓN.

A TI PATY, CON AMOR. COMO EJEMPLO DE QUE CON PERSEVERANCIA TODO SE PUEDE LOGRAR, TARDE O TEMPRANO, EN ESTA VIDA VICISITUDINARIA. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A USTEDES ZELTZIN Y SULAHÍ, CON AMOR. COMO MUESTRA DE META CUMPLIDA. PARA QUE SEA PUNTO DE REFERENCIA MOTIVACIONAL Y LOGREN COSAS MAYORES.

A TI ISAAC, CON AMOR. COMO SIGNO DE SOLIDARIDAD FRATERNAL EN LAS EMPRESAS QUE DIOS NOS SEÑALE. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A TI OLIVIA, CON AMOR. COMO EL SALDO A FAVOR DE MI PREPARACIÓN UNIVERSITARIA PARA QUE TE MOTIVE A OBTENER MÁS GANANCIAS. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A TI LETY, COMO OTRA EXPRESIÓN MÁS DE MI AMOR. COMO ALEGRÍA DEL DEBER CUMPLIDO. A TI DEDICO AMOROSAMENTE ESTE LIBRO.

A USTEDES, MI FAMILIA, DEDICO ESTE TRABAJO COMO CIMA Y CIMIENTO DE MI FORMACIÓN COMO BIÓLOGO.



MI AGRADECIMIENTO:

AL GRUPO DE SINODALES:

DR. MANUEL MIRANDA ANAYA
DR. RENÉ CÁRDENAS VÁZQUEZ
DRA. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ
DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ
BIÓL. MÓNICA SALMERÓN ESTRADA

POR SU INVALUABLE APORTACIÓN QUE CONCAUSÓ LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

AL M. EN C. RENÉ REYES GÓMEZ Y AL BIÓL. JOSÉ LEÓN PÉREZ POR SU APOYO EN LA COLECTA DE EJEMPLARES.

A LA UNIDAD DE AMBIENTES CONTROLADOS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA U. N. A. M. POR LA FACILITACIÓN DE LA CÁMARA DE AMBIENTE CONTROLADO.

AL HERPETARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA U.N.A.M. POR LAS FACILIDADES OTORGADAS PARA EL MANTENIMIENTO DE LOS ORGANISMOS.

AL BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA U.N.A.M., POR LA FACILIDAD OTORGADA PARA LA OBTENCIÓN DE ALIMENTO.

A TODAS Y CADA UNA DE LAS PERSONAS QUE COADYUVARON DE DIVERSA FORMA A LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.

FABRICANTES DE ETIQUETAS

"En cierta ocasión un hombre sabio mostró a sus discípulos una lagartija y les pidió que dijeran algo acerca de ella.

Ellos estuvieron un momento contemplándola en silencio.

Uno pronunció una conferencia filosófica sobre la lagartija.

Otro realizó un discurso científico. Otro creó un poema.

Otro ideó una parábola. Todos tratando de quedar por encima de los demás.

¡fabricantes de etiquetas!

*Uno de los discípulos se acercó a la lagartija,
sonrió y no dijo nada.*

*Él..., simplemente la había
C O N T E M P L A D O"*

("EL QUE SABE NO HABLA. EL QUE HABLA NO SABE")

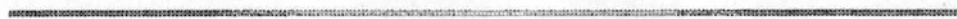


Sceloporus torquatus

ÍNDICE

RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Historia del estudio de los ritmos biológicos	5
2. GENERALIDADES DE LOS RITMOS CIRCADIANOS	12
2.1. Características básicas que definen a los ritmos circadianos	12
2.2. La Sincronización	13
2.2.1. La Sincronización continua o paramétrica	15
2.2.2. La Sincronización discreta o no paramétrica	15
2.3. La Curva de Respuesta de Fase	16
2.4. El Enmascaramiento	17
3. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO EN VERTEBRADOS	18
3.1. La constitución del Sistema Circadiano	18
3.2. Similitud del orden temporal en los sistemas circadianos entre diferentes especies	21
3.3. La glándula pineal como oscilador	22
3.4. Los ojos como componentes del Sistema Circadiano Central	23
3.5. El papel de los ojos en la producción de melatonina	24
3.6. El Sistema Circadiano es multioscilador	24
3.7. La luz, un zeitgeber para múltiples osciladores	25
3.8. Los fotorreceptores retinales y extrarretinales en el Sistema Circadiano de los Vertebrados	26
3.9. Diferencias en el funcionamiento del Sistema Circadiano: recepción de estímulos fóticos	27
4. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO EN VERTEBRADOS NO MAMÍFEROS	29
4.1. Efectos de la pinealectomía sobre la expresión de los ritmos circadianos en vertebrados no mamíferos	30
4.2. La glándula pineal como marcapasos	32
4.3. Papel de la melatonina en la regulación del Ritmo Circadiano de Actividad Locomotora	33
4.4. Participación del ojo parietal en la organización circadiana de los reptiles	34
6. ZONA DE COLECTA	36
5.1 Localización geográfica	36
5.2 Área de colecta	36
5.3 Suelo e Hidrología	37
5.4 Clima	37

5.5 Vegetación	38
5.6 Fauna	38
6. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE <i>Sceloporus torquatus</i>	39
6.1. Características generales de su hábitat	39
7. BIOLOGÍA DE LA LAGARTIJA <i>Sceloporus torquatus</i>	40
7.1. Características morfológicas	40
7.2. El Ciclo Reprodutor	41
7.3 Hábitos	42
8. JUSTIFICACIÓN	43
9. PROBLEMA	44
10. OBJETIVOS	44
11. HIPÓTESIS	46
12. MATERIAL Y MÉTODO	47
12.1. Obtención y mantenimiento de las lagartijas	47
12.2. El registro de la actividad locomotora	47
12.3. La Pinealectomía	48
12.4. La falsa pinealectomía (parietalectomía)	50
12.5. Análisis de datos	50
12.6. Diseño experimental	52
13. RESULTADOS	58
13.1. Características generales del RALM en lagartijas intactas	58
13.2. Efecto de la falsa pinealectomía sobre el RALM	63
13.3. Efecto de la pinealectomía (pin-x) sobre el RALM	67
13.4. Expresión del RALM durante la primavera y durante el verano, de lagartijas intactas y pinealectomizadas	72
14. DISCUSIÓN	74
14.1. Lagartijas intactas	74
14.2. Falsa pinealectomía	78
14.3. Pinealectomía	78
14.4. Efecto de la pinealectomía en distintas épocas del año	80
14.5. Interpretación ecológica	81



16. CONCLUSIONES **82**

GLOSARIO DE TÉRMINOS **83**

BIBLIOGRAFÍA **84**



RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la participación de la glándula pineal en la expresión del ritmo circadiano de actividad locomotora de la lagartija *Sceloporus torquatus* que habita en la localidad de San Andrés Texcalyacác, Edo. de México. Las lagartijas colectadas se sometieron a un protocolo experimental que constó de tres grupos, uno de referencia y dos experimentales. Se registró la actividad locomotora durante periodos constantes de luz blanca, periodos constantes de luz roja tenue y durante ciclos de luz-obscuridad y se realizaron pinealectomías y falsas pinealectomías a las lagartijas en el transcurso de los periodos de acuerdo con el protocolo establecido. Los datos de la actividad locomotora que se registraron fueron analizados mediante actogramas de doble gráfica. Se consideraron cuatro parámetros: El periodo en libre curso, la relación α / ρ , la duración neta de actividad y la máxima actividad después de α . Los resultados obtenidos indican que en esta especie, la glándula pineal no contiene al marcapasos que controla el ritmo de actividad locomotora, sin embargo tiene influencia en la velocidad angular del oscilador que controla dicho ritmo; por lo que su participación en la organización del sistema circadiano podría considerarse periférica. El valor del periodo del ritmo en libre curso no es constante entre los organismos estudiados y la respuesta de esta especie a condiciones constantes de luz blanca es la arritmia. La intensidad con que actúa la glándula pineal en la actividad locomotora de esta especie parece depender de la estacionalidad del año.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia del estudio de los ritmos biológicos.

Desde tiempos antiguos el ser humano ha realizado observaciones de los fenómenos naturales que suceden a su alrededor. Los ciclos lunares, las estaciones del año, los periodos de hibernación y de reproducción de algunos animales son ejemplos de ello. En estos eventos, el hombre ha detectado patrones cíclicos que han llamado su atención por lo que, se da a la tarea de registrar sus observaciones y entenderlas con el afán natural de generar, acumular y divulgar el conocimiento.

En el siglo IV A. C., Alejandro Magno documentaba sus observaciones acerca del movimiento diario de hojas y pétalos de flores. Androsthene, también reportaba cómo las hojas del árbol de tamarindo (*Tamarindus indicus*) se cerraban durante la noche y se abrían durante el día (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Aristóteles describió la hinchazón de los ovarios del erizo de mar durante la luna llena, y Cicerón mencionaba que las poblaciones de ostras y otros moluscos cambian en número según las fases lunares. En 1657, Santorio Santorio especificó que las variaciones de su peso corporal y la turbidez de su orina ocurrían de forma mensual. Tiempo después, Antoine Lavoisier explicó la existencia de variaciones diurnas del peso de un sujeto sano (Gruart *et al.*, 2002).

Pero no fue sino hasta 1729, que la Academia Real de Ciencias de Paris publicó en breve comunicado un estudio metódico realizado por el astrónomo Jean Jacques d'Ortous de

Mairan, quien demostró por primera vez que el ritmo circadiano de una planta (probablemente *Mimosa pudica*) al abrir y cerrar sus pétalos y pedicelos persistía bajo condiciones de obscuridad constante (Moore-Ede *et al.*, 1982). Henri-Louis Duhamel repitió, hacia 1758, los experimentos de Jean Jacques d'Ortois de Mairan con mayor rigor y además varió la temperatura; obtuvo resultados similares en ambos casos concluyendo que ni la temperatura ni la luz condicionaban la apertura y el cierre de las hojas en su ciclo de actividad y reposo (Gruart *et al.*, 2002).

Durante 1745 Karl Linné creador del *Sistema Naturae*, un sistema de taxonomía de plantas, realizó una de las primeras aplicaciones prácticas de los ritmos biológicos creando un reloj de jardín con mapa de flores.

En 1832 Agustín Piranus DeCandolle, notable botánico suizo que desarrolló un nuevo sistema para la clasificación de las plantas, publicó en su obra *Physiologie Végétale*, descubrimientos acerca de que los movimientos diarios de las hojas de *M. pudica* no sólo persistían en condiciones de obscuridad constante, sino que además, lo hacían una o dos horas antes que el día anterior, y postuló una periodicidad de 22 a 23 horas; además demostró que los movimientos de las hojas tampoco dependían de la humedad. Ésta fue la primera demostración de que los relojes circadianos oscilaban libremente con un periodo endógeno cuando no eran sincronizados por un ciclo de luz de 24 horas (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Además DeCandolle realizó un experimento inverso a los anteriores, manteniendo a las plantas con iluminación constante y éstas continuaron teniendo su ciclo de apertura y cierre de hojas pero con un ciclo de 22 horas aproximadamente demostrando que era posible desviar el periodo del ritmo biológico de la planta, del periodo del día real.

También realizó otra serie de experimentos invirtiendo las horas de luz y oscuridad, y encontró que después de los primeros días en que las plantas no presentaron una ritmicidad evidente, éstas restablecieron su alternancia entre actividad y reposo no de acuerdo con el ritmo nictameral local, sino al patrón impuesto artificialmente, indicando con esto, que las plantas dependen de la presencia o ausencia de luz, es decir, de la salida y puesta del sol en un día verdadero. A finales del siglo XIX, Wilhelm Pfeffer repitió y extendió las observaciones de DeCandolle, reiterando el origen endógeno del fenómeno.

En el laboratorio de Karl Von Frisch se iniciaron estudios sobre ritmos de insectos a partir de dos relatos anecdóticos. Uno de ellos, del psiquiatra suizo Augusto Forel en las vacaciones del verano de 1910. Durante un desayuno con su familia en la terraza de su casa de verano, notó que abejas de un panal cercano arribaron a su mesa, donde había mermelada, días después las abejas llegaron poco antes del inicio del desayuno, cuando Forel y su familia desayunaban dentro de la casa, las abejas siguieron llegando a la mesa de la terraza durante los siguientes días en el mismo momento, aún cuando no había mermelada. Años después el científico alemán Hugo Von Buttel-Reepen observó que las abejas libaban en los campos de trigo en la mañana, justo cuando el néctar brota de los capullos de la planta. Con base en estas observaciones, tanto Forel como Von Buttel-Reepen sugirieron que las abejas tienen una memoria o *sentido del tiempo*; idea que fue retomada por Ingeborg Beling, discípula de Von Frisch, como tema de trabajo experimental. Beling repitió las observaciones realizadas en el campo por Forel y Von Buttel-Reepen y realizó una serie de manipulaciones experimentales en laboratorio.

En 1929 publicó su trabajo dando a conocer que los fenómenos mostrados por Forel y Von Buttel-Reepen podían ser reproducidos de manera controlada. Dispuso alimento para

las abejas cada 24 horas y éstas se anticiparon a dicho momento, después dispuso el alimento cada 19 horas y las abejas fueron incapaces de aprender el nuevo diseño experimental, por lo que Beling concluyó que el sentido del tiempo en las abejas está regulado por algún factor ambiental desconocido, asociado al ciclo de 24 horas de rotación de la tierra. Años después se sabría que los relojes biológicos sólo responden a estímulos con periodicidad cercana a la propia.

La planta leguminosa *Canavalia ensiformis* fue estudiada en 1929 por la holandesa Antonia Kleinhoonte. Ella sugirió que el ciclo de movimiento de las hojas de esta planta era heredado genéticamente. Cultivó algunas semillas bajo ciclos de 16 horas (8 horas de luz y 8 de obscuridad) y mantuvo los retoños bajo las mismas condiciones durante 18 días; los retoños mantenían el ciclo de 16 horas pero al ser expuestos a luz constante las plantas recobraron un ritmo de 24 horas coincidente con el ciclo del día verdadero. Este experimento lo repitió con ciclos de diferente duración y en algunos casos colocando las plantas en obscuridad continua confirmando la naturaleza endógena del fenómeno (Gruart *et al.*, 2002).

Erwin Bünning, mostró en 1932, que las plantas y en 1935, que los insectos (Revisado en Moore-Ede, 1982), mostraban ritmos circadianos que persistían en condiciones constantes. Además mostró que los periodos de oscilación del ritmo eran heredados genéticamente, al cruzar distintas variedades de plantas con diferentes periodos endógenos. Tiempo después, fue el primero en reconocer que los relojes circadianos median el tiempo a manera de un ciclo circadiano (alrededor de 24 horas) y señaló ventajas adaptativas en los organismos que les permitía detectar cambios estacionales (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Durante su estancia en la Universidad de Jena, Bünning demostró que los ritmos biológicos tienen un carácter hereditario estudiando la hora en que eclosiona la pupa de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y manteniendo quince generaciones sucesivas en condiciones constantes de luz y temperatura. Las pupas de la última generación eclosionaron a la misma hora que lo habían hecho las pupas de la primera generación (Gruart *et al.*, 2002).

En 1949, después de varios experimentos, Von Frisch concluyó que las abejas pueden usar la posición del sol a manera de brújula. Simultáneamente en 1952, en el Instituto Max Planck en Wilhelmshaven, Gustav Kramer llegó a conclusiones similares cuando estudió la conducta migratoria de los estorninos pintos (*Stumus vulgaris*) (Gruart *et al.*, 2002). Los estorninos y las abejas, parecen ser capaces de orientarse en el espacio determinando la posición del sol, compensando ésta, de acuerdo con la hora del día.

En 1954, Colin Pittendrigh publicó el primero de una serie de artículos donde demostró que, la mosca de la fruta *Drosophila pseudoscura* posee un reloj circadiano que controla el tiempo en que emerge la pupa durante el día. Observó también que aunque muchas reacciones bioquímicas aceleran sus procesos con el incremento de la temperatura, el periodo del reloj circadiano no cambia drásticamente con ésta y mostró que los relojes circadianos compensan cambios en la temperatura, una característica esencial para que el reloj elabore un mecanismo sincronizador viable (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Hacia 1955, Max Renner, colaborador de Von Frisch, en un laboratorio de París entrenó abejas sometiéndolas a condiciones constantes de luz, temperatura y humedad para que se presentaran diariamente a un comedero entre las 8 y las 10 a. m., después las trasladó vía aérea a un laboratorio del Museo Americano de Historia Natural en Nueva York donde

se reprodujeron las mismas condiciones. Las abejas se presentaron al comedero manteniendo intacto el horario de París, y lo mismo ocurrió con otro grupo de abejas que representó el experimento complementario inverso que, al ser probadas en París, mantuvieron el horario de Nueva York.

Sin embargo, y a pesar de que para los investigadores era cada vez más evidente la naturaleza endógena de los procesos de sincronización circadianos, aún había la sospecha que los ritmos circadianos eran un producto de oscilaciones o variaciones en el ambiente más que una conducta endógena.

Pittendrigh, en la década de los cincuenta del siglo XX, retomó los experimentos de Bünning, estudiando la hora de eclosión de dos grupos de moscas, manteniéndolas en obscuridad constante a 16°C y 26°C, respectivamente. Al primer día encontró una diferencia, en la hora de eclosión, cercana a 12 horas, el segundo día reportó una diferencia de sólo 2 horas, pero en el tercer día no había diferencia en la hora de eclosión de las moscas mantenidas a 16°C y 26°C. De manera que concluyó que el proceso que controla la eclosión de la mosca de la fruta es capaz de mantenerse constante a pesar de la gran diferencia de temperatura y esto lo hacía un mecanismo idóneo para servir como reloj (Gruart *et al.*, 2002).

El estudio de los ritmos circadianos ha progresado notablemente a partir del congreso realizado en Cold Spring Harbor (1960), donde se establecieron las bases y metodologías en el estudio de los ritmos biológicos. En particular, desde el inicio de la década de los noventa se han dejado una gran cantidad de elementos que confirman la base genética de estos ritmos. La función de algunos de los genes involucrados comienza a ser

entendida, así como las homologías encontradas entre distintas especies de seres vivos, desde procariontes hasta plantas y animales (Dunlap, 1999).

2. GENERALIDADES DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

2.1. Características básicas que definen a los ritmos circadianos

Los ritmos circadianos se caracterizan por tener un periodo (τ) muy cercano a 24 horas en ausencia de señales naturales; es decir, son susceptibles de variación por cambios naturales del ambiente o por algunos estímulos externos provocados de manera artificial o en laboratorio. El periodo es de 24 horas cuando está sincronizado o en concordancia con el movimiento rotatorio de la tierra, específicamente con el ciclo de luz-obscuridad (LO), pero cuando es sometido a condiciones constantes de obscuridad el ritmo endógeno persiste a lo largo de semanas, meses y hasta por varios años con un periodo ligeramente distinto a las 24 horas.

Los ritmos circadianos presentan periodos estables y tienen relativa resistencia a cambiar su frecuencia ante otros estímulos como la temperatura o drogas. Esta estabilidad se debe a que los periodos de estos ritmos no son consecuencia directa de los cambios en el medio ambiente, sino que actúan de acuerdo a un mecanismo endógeno del organismo (Golombek, 1993). Sin embargo, algunos ritmos pueden disminuir en amplitud y/o periodo después de algunos días o semanas, especialmente en condiciones de luz constante (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Cuando un organismo se encuentra en condiciones aisladas de estímulos periódicos ambientales, por ejemplo, cuando se encuentra privado de un fotoperiodo geofísico, se observa una ligera desviación en el periodo del ritmo, a lo que se le conoce en inglés como "free-running", que en este trabajo se connotará como libre curso u oscilación

espontánea. Esto significa que el periodo se alarga o acorta alrededor de 24 horas según la especie y/o el individuo. Cada especie tiene un periodo característico que depende de información genética (Aguilar, 1993). Sin embargo, la variabilidad en el periodo se puede observar entre organismos de la misma especie, dependiendo de la edad y la condición fisiológica de cada organismo (Aschoff, 1981).

Esta oscilación espontánea es también, una indicación de que el ritmo está controlado o conducido por un reloj autónomo interno en el organismo (Moore-Ede *et al.*, 1982), lo que habla de su naturaleza endógena. Lo anterior hace pensar que el "reloj biológico" es un sistema orgánico capaz de generar un orden temporal en las actividades del organismo, además de implicar la capacidad del sistema para oscilar con un periodo regular, y la capacidad de usar dichas oscilaciones como una referencia temporal interna (Aguilar, 1993).

Por su parte, las variaciones en la temperatura capaces de alterar la cinética de los procesos enzimáticos, no modifican el periodo del ritmo en oscilación espontánea. Lo cual sugiere que a escala metabólica existen sistemas específicos que compensan los efectos de la variación de temperatura (Aguilar, 1993).

2.2. La Sincronización

La ritmicidad circadiana tiene una estrecha relación con los ciclos geofísicos. Ésta se manifiesta de manera clara en el periodo del ritmo y en su relación de fase con los ciclos ambientales. Así, esta sincronización hace posible que el tiempo biológico realice ajustes o adecuaciones con el tiempo geofísico. El ritmo biológico es capaz de sincronizarse

cuando es expuesto a periodos de luz-obscuridad (L-O) en condiciones de laboratorio o a ciclos naturales con fotoperiodos iguales o muy cercanos a 24 horas. Esta característica es fundamental para que cualquier organismo se exprese conductual y fisiológicamente de manera ordenada, siendo un logro adaptativo en el desarrollo del sistema interno de la medición del tiempo que permite al organismo anticiparse a cambios en el ambiente.

En el ambiente existen diversas señales regulares que sirven como indicadores temporales para los organismos, estas señales se conocen con el nombre de *Zeitgeber*, vocablo alemán que literalmente significa "dador de tiempo". De éstos, los que muestran regularidad en su periodo, son los mejor reconocidos y predecibles para el organismo, tal es el caso del ciclo día-noche o los cambios diarios de temperatura ambiental.

La sincronización se realiza cuando el reloj biológico de un organismo ajusta su periodo de oscilación τ con el periodo del ritmo ambiental del zeitgeber (T_z), de tal forma que $\tau = T$. Esto conlleva a una relación o ángulo de fase ($\Psi_{o,z}$) constante entre la fase del ritmo endógeno (ϕ_o) y la fase de ritmo ambiental (ϕ_z). Esta relación depende de la intensidad del estímulo sincronizador y la relación entre τ y T .

La forma en que actúan estos sincronizadores sobre los osciladores no es del todo clara. Se han propuesto dos mecanismos básicos: la sincronización continua o paramétrica y la sincronización momentánea o no paramétrica (Pittendrigh, 1981).

2.2.1. La Sincronización continua o paramétrica

La sincronización paramétrica se da cuando $\tau = T$ ante ciclos completos de luz-obscuridad. En este caso la incidencia de luz da información continua al organismo, y por lo tanto el control que ejerce el zeitgeber sobre el oscilador es constante. La luz genera aceleraciones o desaceleraciones en la velocidad angular del reloj para ajustarlo continuamente. De acuerdo con este supuesto, desde el momento que incide un zeitgeber sobre el reloj, inicia su influencia sobre un oscilador en libre curso. Los cambios de la fase y del periodo van siendo graduales y tardan varios ciclos en mostrar la fase y periodo del sincronizador; estos corrimientos graduales se conocen como "ciclos transitorios". Habiéndose establecido la relación de fase, si es retirado el sincronizador, el oscilador es capaz de continuar su oscilación endógena, manifestando nuevamente su periodo endógeno, a partir de la fase impuesta por el sincronizador (Gruart *et al.*, 2002).

2.2.2. La Sincronización discreta o no paramétrica (Fotoperiodo esqueleto)

La sincronización no paramétrica consiste en mantener al organismo en condiciones de laboratorio y aplicarle un pulso breve de luz al iniciar el día y otro al iniciar la noche, de manera que ambos pulsos indican los momentos de cambio de la iluminación natural, sin ejercer un estímulo continuo sobre el oscilador. A estos experimentos se les conoce como fotoperiodo esqueleto, quedando claro que los ritmos pueden ajustarse a señales ambientales breves, cuando éstas se presentan dentro del rango de sincronización del animal y, dependiendo de la fase en que se encuentre la oscilación al incidir las señales, el organismo interpretará la fase correspondiente a la noche o día subjetivos. Al variar la

distancia entre ambos pulsos, y de acuerdo al pulso de luz al cual sincroniza el inicio de la actividad en los animales diurnos, se puede determinar el día mínimo tolerable (Gruart *et al.*, 2002).

Los experimentos que emplean un fotoperiodo esqueleto, muestran resultados similares que los obtenidos con fotoperiodo completo, lo cual demuestra que los mecanismos no paramétricos son capaces de producir la sincronización (Aguilar, 1993).

2.3. La Curva de Respuesta de Fase

La Curva de Respuesta de Fase (CRF) surge como una estrategia que permite analizar la influencia de estímulos breves sobre el oscilador. El método más usado consiste en mantener al organismo en oscuridad constante para observar un ritmo en oscilación espontánea. Posteriormente, se aplica un pulso breve de luz en un momento determinado, y asociado a una fase específica del ritmo (ϕ). En ciclos posteriores se determina si el ritmo presenta un cambio de fase ya sea un adelanto ($+\Delta\phi$), o bien un retraso de fase ($-\Delta\phi$) con relación a la fase previa al pulso. Cuando este protocolo se aplica a distintas fases del ciclo circadiano puede entonces graficarse una curva de respuesta de fase (Escobar *et al.*, 1997). Las curvas de respuesta de fase siempre señalan que los estímulos son eficaces para modificar el periodo circadiano durante una parte temporalmente significativa del ciclo diario, por ejemplo: una curva de respuesta de fase opuesta a la de la luz, es presentada por la melatonina (hormona secretada por la glándula pineal). Si se suministra a un organismo en la mañana provoca un atraso en el periodo del ritmo, pero si se suministra en la tarde produce adelantos de fase (Golombek, 1993).

2.4. El Enmascaramiento

El fenómeno de "*Masking*" o enmascaramiento representa una dificultad para discernir cuándo un sincronizador causa efecto sobre un ritmo, o bien, es respuesta directa al cambio ambiental sin que sea regulado por el reloj biológico. Para considerar que existe verdaderamente una sincronización y no se trata de una respuesta "pasiva o externa", se ha propuesto como condición que el estímulo en cuestión controle la fase y el periodo del ritmo y que al retirar el estímulo, la oscilación perdure con la fase impuesta por el sincronizador. A pesar de mirar al enmascaramiento como una oposición o desavenencia, este fenómeno es una estrategia adaptativa importante, pues permite que los organismos modifiquen de manera súbita su organización conductual como respuesta a demandas en el ambiente sin que esto implique una modificación al funcionamiento del oscilador (Escobar *et al.*, 1997).

3. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO EN VERTEBRADOS

La organización circadiana en un organismo está definida por las interacciones entre los distintos osciladores circadianos presentes, así como por su relación con el ambiente y con otros sistemas fisiológicos presentes en el organismo (Gruart *et al.*, 2002).

Los zeitgebers actúan directamente sobre los llamados osciladores primarios aún cuando su efecto pueda llegar a conjuntos de células que manifiestan oscilación circadiana en órganos y tejidos, pues éstos últimos están supeditados a dichos osciladores primarios. Esto habla de una jerarquía u organización circadiana. En el conjunto de osciladores unicelulares presentes en un organismo pluricelular, se revela un orden jerárquico claramente definido, que hace que algunos osciladores "jerarquizados" por su localización anatómica o su control sobre vías de comunicación, desempeñen las funciones de "reloj", con capacidad para sincronizar los restantes componentes rítmicos celulares (Golombek, 1997).

3.1. La constitución del Sistema Circadiano

En los vertebrados, el sistema circadiano está constituido por un componente visual, formado por fotorreceptores circadianos acoplados a vías visuales que median la sincronización, estructuras marcapasos que generan la señal circadiana (núcleo supraquiasmático [NSQ] o glándula pineal) y vías eferentes desde los marcapasos a los sistemas efectores (elementos pasivos) como lo muestra la figura 1.

En los mamíferos este oscilador maestro se halla en el Núcleo Supraquiasmático del hipotálamo (NSQ) (Moore-Ede, 1982). El NSQ es una estructura en par, localizada en la base del tercer ventrículo, sobre el quiasma óptico, en la parte anterior del hipotálamo.

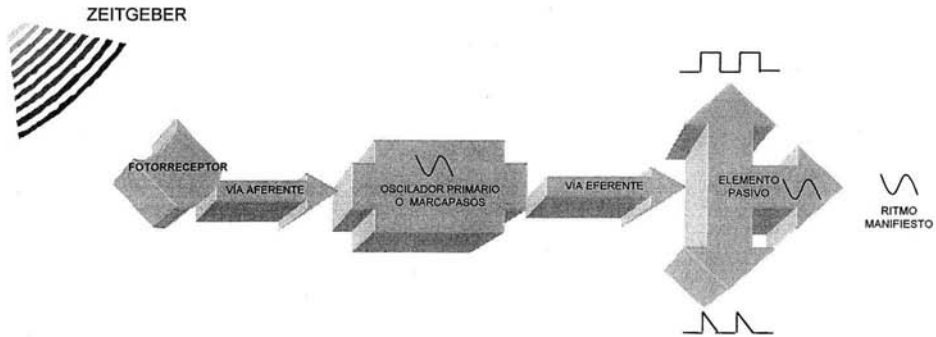


Fig. 1 Esquema básico de la constitución del Sistema Circadiano capaz de responder a cambios ambientales.

Las aferencias más importantes del NSQ son las retinianas. Estas llegan desde la retina a través de una vía directa (el tracto retinohipotalámico), y de una vía indirecta (genículo-hipotalámica). Además de estas aferencias visuales, el NSQ recibe proyecciones de los núcleos del rafe, del tálamo, de otros núcleos hipotalámicos y del septum. La eferencia fundamental del NSQ es hacia otros núcleos del hipotálamo (núcleo paraventricular, ventro y dorsomediano, hipotálamo posterior), al rafe, al tálamo y al área preóptica (Golombek, 1997).

Una forma de entender los procesos de sincronización de la actividad de los ritmos efectores es mediante el estudio de los mecanismos de transducción de señales dentro de las células del NSQ. Este núcleo (NSQ) sincroniza esta actividad a través de proyecciones a los dos grandes sistemas de comunicación del organismo: el sistema endócrino y el sistema nervioso autónomo, cuyo funcionamiento cambia según el control

del oscilador primario en función de la hora del día. Si se produce una lesión bilateral del NSQ en los mamíferos, se eliminan o alteran los ritmos circadianos, tales como la actividad locomotora, la ingesta de alimentos, la temperatura corporal, la actividad sexual, el ciclo de sueño-vigilia y los ritmos endócrinos. Bajo esta situación otros osciladores secundarios, como por ejemplo los que controlan la temperatura o los que responden a la disponibilidad de alimentos, adquieren la función de sincronizadores primarios.

La destrucción del NSQ produce la desaparición de numerosos ritmos circadianos en roedores (Moore y Rehana, 2001). Las neuronas de estos núcleos mantienen, *in vitro*, un ritmo circadiano en su actividad eléctrica (Green y Guillette, 1982) y muestran una curva de respuesta de fase ante la estimulación de las vías neurales participantes en los efectos de la luz, semejante a la obtenida *in vivo* (Meijer, 2001).

Si se lesiona el NSQ para producir arritmia en la expresión de la actividad locomotora, ésta puede restablecerse con un trasplante de NSQ de un neonato dentro del tercer ventrículo del animal lesionado (Lehman *et al.*, 1987). Los estudios de trasplante también muestran que, la longitud del periodo en oscilación espontánea de la expresión del ritmo circadiano en mamíferos es determinada por el periodo del tejido del NSQ del animal donador en el trasplante (Ralph *et al.*, 1990).

El NSQ se acopla con las gónadas para producir los cambios estacionales del ciclo reproductivo. En reptiles y aves, la glándula pineal es el órgano que lleva a cabo el acoplamiento fotoendócrino por medio de su hormona, la melatonina. En el sistema endócrino, varias hormonas son secretadas mostrando ritmos diarios, entre ellas, la melatonina y el cortisol los cuales tienen importancia como indicadores de sincronización, son considerados *zeitgeber* químicos internos de algunos otros procesos fisiológicos. La

melatonina se secreta durante la noche y su secreción es proporcional a la extensión de la fase de oscuridad (Golombek, 1997).

La glándula pineal es una estructura altamente vascularizada cuyas formas son una evaginación en la bóveda diencefálica del cerebro. En los vertebrados no mamíferos, la glándula pineal es fotosensible y en muchas de las especies estudiadas indica la presencia de un oscilador circadiano (Menaker *et al.*, 1997). En mamíferos la glándula pineal recibe indirectamente información lumínica del ambiente, desde el sistema nervioso central (SNC) por la vía simpática neural, hasta el ganglio cervical superior (GCS). En respuesta al estímulo del GCS, la glándula pineal de los mamíferos produce la hormona melatonina y la secreta directamente hacia la corriente sanguínea. La melatonina puede entonces actuar en el SNC, donde afecta la actividad eléctrica neuronal. (McArthur *et al.*, 1991); actúa también indirectamente en las gónadas durante la época de reproducción de los mamíferos donde media la regresión gonadal y se observa un recrudescimiento con el cambio de estación (Malpaux *et al.*, 1999), y en tejidos vasculares similares, donde puede afectar al sistema nervioso simpático (Weekley, 1991).

3.2. Similitud del orden temporal en los sistemas circadianos entre diferentes especies

Mientras que diversas especies pueden tener diferentes fases de actividad hacia el mundo exterior, el orden temporal interno es, por lo general, completamente similar para un organismo y otro. Así, el ritmo de actividad de una especie nocturna como el de la rata, es muy similar a la de una especie de actividad diurna, como el del mono ardilla, pero en la fase complementaria del ciclo. Sin embargo, en las dos especies, el pico máximo de

secreción rítmica de plasma corticosteroide coincide con el comienzo de la actividad, por lo que se piensa, que la estructura interna de los dos sistemas circadianos temporales parecen tener una organización similar en estas especies (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Existen múltiples trabajos que documentan la persistencia de ritmicidad en el marcapasos circadiano central después de la pinealectomía y de la enucleación ocular. En algunos pájaros (pájaro casero, pájaro de Java, coronado blanco), se observa arritmia en condiciones de obscuridad constante (condiciones de laboratorio) después de la pinealectomía; en otras aves se observa arritmia después de la enucleación ocular (codorniz japonesa) o después de la pinealectomía seguida de la enucleación ocular (palomas). La ritmicidad persiste después de la pinealectomía en estominos (Gwinner y Benzinger, 1978), esta persistencia puede presentarse también después de la enucleación ocular.

3.3. La glándula pineal como oscilador

Se han realizado cultivos de glándula pineal (o células dispersas) que han mostrado ritmicidad en la síntesis y secreción de melatonina sólo por algunos ciclos en condiciones constantes de iluminación. Sin embargo, Barrett y Takahashi (1997) descubrieron que la persistencia de ritmicidad en un cultivo de células de glándula pineal de pollos depende de la variación en la temperatura del cultivo, dando la posibilidad de que el oscilador en el órgano pineal pueda ser autónomo. Para determinar si el órgano pineal tiene autonomía rítmica *in vivo*, es necesario examinar el desarrollo de la glándula pineal en condiciones constantes de iluminación después de haber eliminado las vías hacia otros componentes del sistema (Underwood, 2001).

En un estudio realizado por Cassone y Menaker (1983), la denervación simpática del órgano pineal de pollo abolió la ritmicidad en la secreción de melatonina plasmática, mientras que la infusión diaria de norepinefrina restableció el ritmo de secreción de melatonina plasmática sugiriendo que el suministro diario por medio del nervio simpático es necesario para mantener la ritmicidad del órgano pineal. La ritmicidad en la secreción de melatonina plasmática en oscuridad constante también es abolida en la codorniz japonesa *Coturnix coturnix*, después de la enucleación ocular bilateral (Underwood y Siopes, 1984). Al parecer, la enucleación ocular interrumpe el flujo rítmico de melatonina en el sistema circadiano central de la codorniz japonesa, lo cual es hipotético, pues sólo sugiere que el marcapasos central no fue capaz de conectar y proveer de una vía neural hacia el órgano pineal. Esta hipótesis es apoyada por el descubrimiento de que el órgano pineal de la codorniz no muestra ritmicidad *in vivo* después de la denervación (Zimmerman y Menaker, 1979). Existen pocos estudios *in vivo* en aves que sugieren la posibilidad de que exista (pollo, codorniz japonesa) o no (gorrión casero), ritmicidad en el órgano pineal, dependiendo de la entrada neural.

3.4. Los ojos como componentes del Sistema Circadiano Central

Se han realizado algunos estudios para determinar si el oscilador ocular, como componente del sistema circadiano central, es totalmente autónomo en los vertebrados no mamíferos. Un estudio mostró que los niveles de ARNm para el cono de pigmento iodopsina muestran un ritmo circadiano de dos ciclos en cultivos primarios de retina de embrión de pollo (Pierce *et al.*, 1993). Además se ha demostrado que la retina del hámster, en cultivo, secreta rítmicamente melatonina en condiciones constantes de oscuridad (Tosini y Menaker, 1996)

3.5. El papel de los ojos en la producción de melatonina

En adición al funcionamiento de la glándula pineal, los ojos laterales de algunas especies también pueden contribuir a la producción sistémica de melatonina en el cuerpo (Ebihara, *et al.*, 1984; Foà y Menaker, 1988; Underwood y Siopes, 1984; Cahill y Besharse, 1991). La retina de los mamíferos tiene también un oscilador circadiano responsable de la producción de melatonina (Tosini y Menaker, 1996). La enucleación ocular bilateral en mamíferos no afecta la longitud o amplitud del periodo en oscilación espontánea de la actividad circadiana; de cualquier manera el procedimiento causa una cierta extensión en el periodo en libre curso e imposibilita la sincronización a ciclos de luz-obscuridad (Yamazaki *et al.*, 1999). Como se ha mencionado, en la codorniz japonesa *C. coturnix*, la enucleación ocular bilateral elimina completamente la ritmicidad circadiana de actividad locomotora y de la melatonina circulante en la sangre (Underwood y Siopes, 1984). Posiblemente en *C. coturnix*, el marcapasos circadiano primario reside en el ojo, de cualquier forma el factor usado como señal para el sistema es la melatonina. En la paloma, la enucleación ocular causa arritmia en la ingesta de alimento, por lo que se le considera un elemento dominante en el sistema circadiano de este organismo (Chabot y Menaker, 1992).

3.6. El Sistema Circadiano es multioscilandor

El sistema circadiano de los vertebrados no mamíferos es complejo pues, a nivel de organismo muestra que está constituido no sólo por múltiples marcapasos sino que también consta de varios fotorreceptores, y a nivel de tejidos, un cultivo de células de

glándula pineal puede mostrar ritmicidad circadiana, es decir, la célula tiene o funciona como un oscilador por naturaleza.

Además, los ojos y el NSQ son también considerados como osciladores. Se tiene poca información acerca de las interacciones que ocurren en estos niveles de organización. Uno de los varios caminos por el cual, los elementos del sistema circadiano pueden comunicarse es la vía de secreción rítmica de melatonina.

A pesar de que no se han investigado gran número de especies, la melatonina de origen pineal parece ser el principal mecanismo por medio del cual la glándula pineal puede controlar al NSQ y a otros ritmos manifiestos. Adicionalmente, la melatonina secretada por los ojos está propuesta como la que une el reloj ocular al sistema circadiano central en dos especies de aves. Además, el reloj ocular puede ser acoplado potencialmente al resto del sistema circadiano por rutas neurales, como es sugerido en la codorniz japonesa. Pues el tracto retino-hipotalámico provee una conexión neural directa al NSQ; esta vía representa una buena posibilidad de acoplamiento entre el reloj ocular y el extraocular (Underwood, 2001).

3.7. La luz, un zeitgeber para múltiples osciladores

La luz es un zeitgeber de acción múltiple para el sistema circadiano de los vertebrados. La luz puede causar efecto directo en el reloj del órgano pineal y de los ojos, y esto puede afectar la vía de los ojos al NSQ y la vía de fotorreceptores extrarretinianos localizados en el cerebro. Además, la luz afecta la síntesis de melatonina en el órgano pineal o en los ojos, suprimiendo su producción; sin embargo, el efecto de la luz sobre los sistemas

circadianos no es del todo claro. En animales pinealectomizados o enucleados que presentaron arritmia en condiciones de obscuridad constante, en un ciclo de luz-obscuridad, de 24 h, pueden igualmente presentar ritmo diario de actividad, pero por efecto de enmascaramiento (Underwood, 2001).

3.8. Los fotorreceptores retinales y extrarretinales en el Sistema Circadiano de los Vertebrados

Es interesante notar que, el sistema circadiano de los vertebrados no mamíferos parece estar multiplicado en elementos (complejo de osciladores), y la luz puede afectar al sistema circadiano a diferentes niveles; la razón por la cual se trata de todo un sistema no es clara, pero por la historia evolutiva de los animales, debe tener un papel adaptativo significativo. Por ejemplo, los organismos primitivos probablemente utilizaron fotorreceptores extrarretinales antes de que los ojos laterales evolucionaran y, por alguna razón, estos receptores extrarretinales pudieron haberse conservado en algunos grupos de animales. Tal vez los receptores retinales y extrarretinales reciben información diferente, tal información pudiera abarcar la sincronización paramétrica y la no paramétrica para la sincronización a ciclos de luz-obscuridad, o como sugieren Foster y colaboradores (Foster *et al.*, 1994), los fotorreceptores retinales pueden ser tan especializados como para percibir la radiación directa y continua y por su parte los fotorreceptores extrarretinales pueden encargarse de percibir los cambios de intensidad lumínica. El papel de la melatonina en la transducción de la información fotoperiódica también muestra ser una antigua característica de evolución; por ejemplo, la melatonina muestra jugar un papel determinado y específico en los vertebrados actuales (Vivien-Roels y Pévet, 1993). En organismos antiguos, los fotorreceptores de los ojos o del

órgano pineal pudieron haber utilizado melatonina como transductor de información fotoperiódica. De cualquier forma y de manera subsecuente, la melatonina fue liberada dentro del cuerpo y fue degradada por los riñones o el hígado, y pudo ser utilizada después para un papel más sistémico en el sistema circadiano de los animales. Puede ser posible que exista un sistema con múltiples relojes y múltiples vías fóticas simplemente por redundancia, para que los organismos tengan cierta flexibilidad al enfrentarse a los cambios de vida en diferentes condiciones ambientales y nichos (Underwood, 2001).

3.9 Diferencias en el funcionamiento del Sistema Circadiano: recepción de estímulos fóticos

El sistema circadiano de los mamíferos presenta un número de diferencias significativas en relación con el sistema circadiano de los no mamíferos. Aunque algunos componentes del sistema de los mamíferos es claramente derivado del sistema de los vertebrados no mamíferos, el papel es semejante y parecido en importancia para el NSQ. Primero, el órgano pineal de los mamíferos no contiene un oscilador ya que la síntesis de la melatonina del órgano pineal es controlada por un reloj fuera de la glándula pineal, localizado en el NSQ. Consecuentemente, la pinealectomía no afecta la ritmicidad en la síntesis de melatonina en los mamíferos. Segundo, la fotorrecepción extraocular está ausente ya que la entrada de luz en el sistema circadiano ocurre sólo por los ojos. Tercero, el marcapasos principal de los mamíferos reside en el NSQ, aunque existen algunas evidencias a cerca de la presencia de otros osciladores (Yamazaki *et al.*, 2000; Tosini y Menaker, 1996). Cuarto, en muchas especies de mamíferos, la distribución de sitios de melatonina concentrada en el cerebro es más restringida.

Aunque la producción de melatonina por la glándula pineal de los mamíferos es dirigida por el NSQ, la melatonina puede tener algunos efectos en el sistema circadiano de los mamíferos. Por ejemplo, la administración diaria de melatonina puede sincronizar el ritmo de actividad locomotora en ratas, y pulsos de melatonina pueden causar cambios de fase en los ritmos circadianos en humanos. Es probable que los efectos de la melatonina ocurran en los niveles del NSQ, pues éste presenta abundantes receptores de melatonina. El control que ejerce el NSQ sobre el ritmo en la producción de melatonina, muestra que se trata de un efecto de retroalimentación entre el NSQ y la glándula pineal (Menaker, 1997).

Muy probablemente, los principales componentes del sistema circadiano de los mamíferos han derivado del más complejo sistema poseído por los ancestros reptilianos. De cualquier forma, esto todavía no es claro, porque las aves conservan este complejo sistema, del cual, los mamíferos preservaron sólo ciertos elementos. Una de las razones por las que se pudo simplificar el sistema circadiano es el hecho de haber tomado diferentes direcciones para fines reproductivos. La pérdida de la fotorrecepción extrarretinal en los mamíferos pudo haber ocurrido a lo largo de la "nocturnidad" que dominó durante la época en que los mamíferos surgieron como nuevos pobladores y dominadores de la tierra.

4. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA CIRCADIANO EN VERTEBRADOS NO MAMÍFEROS

Mientras que en los mamíferos el NSQ es el oscilador maestro, en otros vertebrados tales como reptiles y aves, al parecer, es la glándula pineal quien funge como principal oscilador maestro. Sin embargo, se han considerado también en estos grupos, estructuras homólogas al NSQ cuyo papel no es completamente claro. En el sistema circadiano de reptiles y aves, numerosas evidencias anatómicas, inmunohistoquímicas y fisiológicas indican la presencia de un oscilador hipotalámico, pero su exacta localización e interrelación con el NSQ de los mamíferos es todavía dudosa. Exámenes histológicos del hipotálamo en algunas lagartijas y aves indican que un área homóloga al NSQ de los mamíferos está localizada justo lateralmente de la órbita preóptica del tercer ventrículo del hipotálamo, sin embargo marcando la melatonina y rastreando la zona, los experimentos sugieren que el homólogo al NSQ puede ser más lateral y caudal (Crosby y Showers, 1969; Cassone y Moore, 1987; Cassone, 1988; Brooks y Cassone, 1992; Janik, *et al.*, 1994).

En el gorrion *Passer domesticus*, el gorrion de Java o pájaro del arroz *Padda oryzovoria*, y en la codorniz *C. coturnix*, la ritmicidad circadiana de la actividad locomotora es eliminada después de lesionar el área hipotalámica homóloga al NSQ de los mamíferos (Takahashi y Menaker, 1982; Ebihara y Kawamura, 1981; y Simpson y Follett, 1981).

En la iguana del desierto *Dipsosaurus dorsalis* y la lagartija de ruinas *Podarcis sicula*, el marcapasos responsable de la ritmicidad locomotora está en el área homóloga al NSQ, a partir de lesiones electrolíticas en esta área se elimina su ritmicidad (Janik, *et al.*, 1990;

Minutuni, *et al.*, 1995), de la misma manera, la ritmicidad también es eliminada en la rana africana *Xenopus* después de lesiones en el hipotálamo ventral (Harada *et al.*, 1998).

La glándula pineal de muchos vertebrados no mamíferos es directamente fotosensitiva (Revisado en Meissl y Yañez, 1994). Cuando se aísla y cultiva bajo condiciones de oscuridad constante la glándula pineal de muchas, pero no todas, las especies pueden también mantener un ritmo circadiano de síntesis de melatonina (Tosini y Menaker, 1998).

4.1. Efectos de la pinealectomía sobre la expresión de los ritmos circadianos en vertebrados no mamíferos

En contraste con el ligero papel que juega en el sistema circadiano del mamífero, la glándula pineal de muchas especies de no mamíferos, aparentemente juega un papel de marcapasos central gobernando varias conductas circadianas. En las especies de aves *P. domesticus* y *P. oryzovoria*, la pinealectomía elimina el ritmo circadiano de actividad locomotora (Gaston y Menaker, 1968; Ebihara y Kawamura, 1981). Igualmente lo hace en la lagartija *Anolis carolinensis* (Underwood, 1989) y la lamprea *Lamprea japonica* (Morita *et al.*, 1992).

En algunos animales, sin embargo, los efectos de la pinealectomía son menos severos. La pinealectomización de las lagartijas *Sceloporus occidentalis* y *P. sicula* induce un cambio significativo en la longitud del periodo del ritmo en libre curso (Underwood, 1983 y 2001; Foà, 1991). Por otra parte no se observan efectos cuando la glándula pineal es removida en la iguana del desierto *D. dorsalis* (Janik y Menaker, 1990), y abole el ritmo circadiano de temperatura corporal cuando un adulto de *Iguana iguana* es

pinealectomizado sin ser afectado el ritmo de actividad locomotora (Tosini y Menaker, 1998).

En las lagartijas, la pinealectomía (o en algunos casos, la ablación ocular) puede causar también arritmia, partición del ritmo (splitting), o cambio en el periodo, pero, sólo en tres especies (en la lagartija de ruinas *P. sicula*, en la lagartija de la costa del oeste *Sceloporus olivacea* y en la iguana del desierto *D. dorsalis*) la ritmicidad puede persistir después de la pinealectomización y la enucleación ocular (Underwood, 1981; Janik y Menaker, 1990, Foà, 1991), mostrando que el marcapasos circadiano central es distinto a la glándula pineal. En algunos peces se observa también, persistencia del ritmo después de la pinealectomía, aunque no se sabe si se puede observar después de la combinación de la pinealectomía y la enucleación ocular (Underwood, 2001).

En algunas especies de lagartijas (y en algunos peces), la pinealectomía y/o la enucleación ocular producen arritmia, mostrando que el marcapasos que regula el ritmo de actividad locomotora está en alguna de las estructuras eliminadas y no en el homólogo al NSQ. En algunos peces, reptiles y aves intactos, el ritmo se mantiene presente ya que existe una interacción entre la glándula pineal y el homólogo al NSQ o bien, entre el ojo y el homólogo al NSQ. Esto es favorable para la organización circadiana y explica la variedad de efectos expresados después de la pinealectomía o la enucleación ocular. Si el homólogo al NSQ es un oscilador (o conjunto de osciladores) relativamente firme y definido, la pinealectomía o la ablación ocular pueden no tener efecto sobre él, o bien, es probable que causen efecto sólo en el periodo. Si el homólogo al NSQ es un oscilador débil, la pinealectomía o la enucleación ocular producen arritmia o splitting. Es interesante notar que el rango de efectos que son observados en distintas especies de lagartijas es

notablemente similar al de algunas aves, lo que presupone similitud entre ambos sistemas circadianos.

4.2. La glándula pineal como marcapasos

A veces los efectos de la pinealectomía en la conducta circadiana son diversos entre las diferentes especies estudiadas; investigaciones con glándula pineal *in vitro* pueden proveer algunas pistas útiles de sus funciones dentro del animal intacto. En cultivos de glándula pineal de la iguana del desierto *D. dorsalis*, se produce melatonina pero no rítmicamente (Janik y Menaker, 1990), posiblemente por ello, la pinealectomía no abole la ritmicidad en el registro de actividad locomotora. Por su parte, en cultivos de glándula pineal de otras especies de lagartijas y aves, se sintetiza melatonina rítmicamente y por consiguiente se presume que el animal pierde ritmicidad en la actividad locomotora cuando se pinealectomiza; lo que sugiere que la melatonina por sí misma no es suficiente para controlar la ritmicidad circadiana, pero un suministro rítmico de melatonina en una cantidad con niveles por encima de los umbrales es suficiente para establecer la ritmicidad en un animal intacto. Cuando los animales son pinealectomizados, los niveles de melatonina circulante en la corriente sanguínea son abolidos o altamente reducidos, pero inyecciones periódicas de pequeñas dosis de melatonina exógena pueden reiniciar el ritmo de la actividad circadiana como por ejemplo, en el estornino europeo *Stumus vulgaris* y en la lagartija *S. occidentalis* (Gwinner y Benzinger, 1978; Underwood, 1981).

La pinealectomía parece tener pequeños efectos en el ritmo circadiano de actividad locomotora de la iguana del desierto, o bien, en la actividad locomotora y ritmicidad de la temperatura corporal de la codorniz japonesa (Janik y Menaker, 1990; Underwood, 1994);

y el órgano pineal de estas especies no muestra ritmicidad *in vitro* (Janik y Menaker, 1990; Murakami *et al.*, 1994). Se debe tener cuidado en realizar correctamente la pinealectomía pues de no ser así, el remanente de la glándula pineal puede tener influencia en el organismo. Sin embargo, otros elementos son suficientes para mantener una conducta relativamente normal con ausencia del órgano pineal. Por otra parte, si la glándula pineal no muestra ritmicidad autónoma *in vitro*, sí puede expresar ritmicidad en el organismo intacto pues esto significaría que existen vías de comunicación de tipo neural o fótico. El papel del órgano pineal en estas especies, no es del todo, el de marcapasos, pero sí, el de un transductor termoendócrino o fotoendócrino, el cual permite la influencia de la iluminación externa o las condiciones de temperatura externa hacia el sistema circadiano.

4.3. Papel de la melatonina en la regulación del Ritmo Circadiano de Actividad Locomotora

Al aplicar infusiones rítmicas de melatonina a palomas con enucleación ocular y pinealectomizadas, que además carecen de melatonina sistémica y son arrítmicas, éstas pueden sincronizar la ritmicidad del comer y la conducta locomotora a un ciclo determinado (Chabot y Menaker, 1992). Implantes de melatonina, también pueden afectar la longitud del periodo del ritmo de actividad locomotora en varias especies en condiciones de libre curso; ya sea acortándola o alargándola. En conjunto estos experimentos apoyan la hipótesis que la regulación y mantenimiento de conductas circadianas en vertebrados no mamíferos es, en gran parte, dependiente de la concentración de melatonina en el cuerpo.

En las lagartijas *S. occidentalis* y *P. sicula*, la enucleación ocular simplemente produce cambios significativos en la longitud del periodo de oscilación espontánea de actividad locomotora por lo que la melatonina secretada por estas estructuras podría estar involucrada en el control del periodo del ritmo (Underwood, 1981; Foà, 1991).

A la inversa, en *D. dorsalis* no se han observado cambios en la longitud del periodo del ritmo de actividad locomotora en libre curso después de la enucleación ocular (Janik y Menaker, 1990). Estos resultados sugieren que en algunos vertebrados no mamíferos la melatonina producida por la retina no participa en la organización del sistema circadiano que regula la actividad locomotora. Además, el hecho de que los animales pueden sincronizar a los ciclos de luz después de la enucleación ocular, demuestra que la fotorecepción extraocular juega un papel significativo en los vertebrados no mamíferos. Además de esto, algunos iguánidos también poseen un ojo parietal o "tercer ojo", que puede también ser un componente activo del eje circadiano reptiliano.

4.4. Participación del ojo parietal en la organización circadiana de los reptiles

El ojo parietal de la iguana verde (*Iguana iguana*) *in vitro* sintetiza rítmicamente melatonina; por lo que esta síntesis se encuentra regulada por un oscilador en el propio ojo parietal (Tosini y Menaker, 1998), y su ablación afecta la habilidad en la termorregulación (Ralph *et al.*, 1979). En la iguana verde, el remover el ojo parietal no afecta alguna conducta circadiana, de cualquier manera su remoción puede bajar la concentración de la melatonina sistémica en niveles muy tenues. En la lagartija nocturna *Uta stansburiana*, el ojo parietal puede servir como un detector del amanecer y el ocaso. Si uno estimula con luz al ojo parietal, un potencial graduado es producido directamente

desde los fotorreceptores y pueden depolarizar o hiperpolarizar, dependiendo de la longitud de onda usada (Solessio y Engbretson, 1993). Ya sea esta respuesta u otra distinta obtenida por parte del fotorreceptor retinal del vertebrado, indica alguna conexión elemental neural de orden secundario.

Hay considerables evidencias que indican la existencia de otros organismos que poseen diversos osciladores circadianos autónomos. Los patrones rítmicos "*in vivo*" muestran con mayor claridad ejemplos de interacciones entre osciladores individuales mediante un asa de retroalimentación (Cassone y Menaker, 1984).

5. ZONA DE COLECTA

5.1. Localización geográfica

La zona de colecta se localiza en el Estado de México, en la población central de la República Mexicana, dentro de la provincia biogeográfica denominada Eje Neovolcánico (CONABIO, 1998).

La colecta se realizó en el municipio de San Mateo Texcalyacác, que se encuentra dentro de los límites más sureños de la región Neártica (West, 1971). San Mateo Texcalyacác, como cabecera municipal, ocupa una extensión de 20.44 Km². Se encuentra ubicada geográficamente entre los 19° 09' 15" N y 99° 28' 55" O. Este pueblo se encuentra en colindancia con los siguientes municipios: al norte con Almoloya del Río, al sur con Joquicingo y Ocuilan, al poniente con Santa María Rayón, Tenango del Valle y San Antonio la Isla y al oriente con Santiago Tianguistenco (INEGI, 1987).

5.2. Área de colecta

El área de colecta es un Parque Estatal que se encuentra situado dentro de una cadena montañosa denominada Volcán Cerro Holotepec, la cual cuenta con una altitud máxima de 3,250 m. Dicha área pertenece al Municipio de San Mateo Texcalyacác, Estado de México.

5.3. Suelo e Hidrología

Los suelos predominantes en el área son los andosoles y litosoles. El área tiene un alto grado de permeabilidad (INEGI, 1987). El Municipio de San Mateo Texcalyacác, está formado por tres taludes o niveles escalonados: el primero está ocupado por lo que fue la Laguna de Chiconahuapan, la cual está formada principalmente por el agua y sedimentos que bajan de los cerros, el segundo nivel está formado por tierras de labranza y la cabecera municipal, y el tercer nivel, en donde se realizó la colecta, lo conforman una zona montañosa compuesta totalmente de lavas y materiales piroclásticos de rocas ígneas extrusivas, basaltos, tobas y brechas volcánicas que datan del periodo Cuaternario (INEGI, 1987), así como de aluvión de origen lacustre del Terciario y Cuaternario, que no han sufrido perturbaciones desde que se formaron (López y Ramos, 1979).

5.4. Clima

El tipo de clima que se presenta en la región según los datos de la estación meteorológica de Santiago Tianguistenco, es el templado subhúmedo con lluvias en verano, el más seco de los subhúmedos C(w)2 (w) b(i), con una temperatura media del mes más frío, entre -3° y 18°C , con una oscilación de 5.6°C , la precipitación media anual es entre los 1000 y 1500 mm (García, 1974). Los meses más calurosos son de junio a octubre, la dirección de los vientos es de noreste a suroeste, con periodos de tolveneras en los meses de febrero a marzo. El periodo de frío perdura de noviembre a febrero, acentuándose en diciembre y enero.

5.5 Vegetación

El área de colecta, que se encuentra localizada en el tercer talud o nivel, se caracteriza por la presencia de un bosque templado de encino-pino. La vegetación arbórea predominante, está compuesta de encinos y pinos, de los géneros: *Quercus* y *Pinus* respectivamente. Completan la vegetación arbórea especies de árboles de los géneros: *Prunus*, *Rubus*, *Crateagus* y *Buddleia*. El estrato arbustivo se encuentra conformado por especies tales como: *Arbutus glandulosa*, *Salvia elegans*, *Senecio barbajohannis*, *Baccharis conferta*, *Eupatorium* y *Bouvardia ternifolia*. El estrato herbáceo, se encuentra representado por hierbas de los géneros *Penstemon*, *Stevia*, *Phaseolus*, *Cirsium* y *Begonia*, así como algunas gramíneas de las especies *Festuca tolucensis* y *Stipa ichu* (Rzedowski, 1978, López-Islas 1994).

5.6. Fauna

La fauna de vertebrados es en general, la que se puede encontrar en la Cordillera Neovolcánica, que está principalmente conformada por especies neárticas y sólo algunas neotropicales (Álvarez y Lachica, 1991). En particular, en el Municipio de San Mateo Texcalyacác, se han registrado una especie de anfibio y seis de reptiles entre ellas una perteneciente a la familia Pirosoomatidae; así como 132 especies de aves, algunas acuáticas y otras de zona de cultivo (Babb *et al.*, 1989 y López-Islas 1994). Los mamíferos se encuentran representados por 15 familias y 25 especies, 12 de ellas son roedores y el resto pertenecen a los órdenes Didelphimorphia, Insectívora, Chiroptera, Xenarthra, Lagomorpha, Carnívora y Artiodactyla (Monterrubio, 1991).

6. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE *Sceloporus torquatus*

Esta lagartija se encuentra en los estados de Guanajuato, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Tamaulipas, Veracruz y el Distrito Federal (Uribe-Peña *et al.*, 1999). Las lagartijas examinadas en el presente trabajo fueron colectadas en la localidad de San Andrés Texcalyacác, Edo. de México.

6.1. Características generales de su hábitat

Viven en comunidades de bosque de encino y pino-encino, generalmente a una altitud de 2500-2700 m; estas lagartijas no han sido localizadas en montañas que sobrepasen las altitudes mencionadas; las lagartijas empleadas en este trabajo se encontraron siempre en un microhábitat de rocas agrietadas, por lo que se les puede clasificar como saxícolas (Uribe-Peña *et al.*, 1999).

7. BIOLOGÍA DE LA LAGARTIJA *Sceloporus torquatus* [Squamata: Phrynosomatidae]

7.1. Características morfológicas

La lagartija empleada en el presente trabajo forma parte de las especies mexicanas de *Sceloporus* del grupo TORQUATUS; es robusta, de talla mediana, la superficie dorsal del cuerpo es de color canela verdoso a canela oscuro con manchas claras triangulares y se caracteriza por mostrar, en la parte media dorsal del cuello, un collar completo de color negro de cuatro a cinco escamas de ancho, bordeado tanto en su parte anterior como en la posterior, por una línea amarillo o verde claro, o bien, verde amarillento, del ancho de una escama, la cual se interrumpe en la parte media dorsal.

Las escamas de la cabeza son lisas, sobresaliendo por su mayor tamaño las frontales e interparietales; las supraoculares se presentan en una sola hilera; los lóbulos del borde anterior de la abertura del oído, están en número de tres, son más grandes que los que preceden a éstos. Las escamas dorsales, contadas del occipucio a la base de la cola (a lo largo de la línea mediodorsal), se presentan en líneas paralelas, son ligeramente quilladas y mucronadas, el número mínimo es de 26 y el máximo de 37 hileras; las dorsolaterales son más grandes, fuertemente quilladas y mucronadas. Las hileras de poros femorales son de 17 a 20 poros a cada lado.

La región gular, en hembras y jóvenes, está adornada de densos puntos de color amarillo claro, y en los machos adultos es totalmente gris oscura; en los machos, regularmente toda la superficie ventral es azul o inclusive negra; con excepción de la cola y zona femoral y en ocasiones la línea longitudinal media ventral, que son azul oscuro; la

garganta, así como la ingle, son gris oscuro. Las hembras tienen el vientre amarillo claro, generalmente más oscuro hacia los bordes, zonas donde las tonalidades son gris o azul oscuro (Smith y Taylor, 1950; Uribe-Peña *et al.*, 1999).

7.2. El Ciclo Reproductor

En los machos el desarrollo testicular se inicia aproximadamente a mediados del verano (julio-agosto) y hasta septiembre-octubre cuando alcanzan su máximo volumen y peso. Posteriormente comienza la regresión testicular, la cual es acentuada en octubre y noviembre. Similarmente, las hembras comienzan su actividad ovárica en junio, el proceso de vitelogénesis inicia a finales del verano (septiembre-noviembre), para octubre existen de uno a cinco folículos preovulatorios por ovario, culminando con la ovulación durante noviembre o diciembre. Las hembras son preñadas durante el otoño, e inician la gestación, que dura aproximadamente cinco meses. El desarrollo embrionario es relativamente lento durante los primeros meses de gestación (diciembre a febrero, cuando la temperatura ambiental es la más baja), pero éste se incrementa durante marzo y sobre todo en abril; para luego parir en primavera (finales de abril, principios de mayo). El número de huevos oviductales por hembra, varía de 3 a 10 (Guillette y Méndez de la Cruz, 1993; Uribe *et al.*, 1995; Feria *et al.*, 2001).

Los neonatos de ambos sexos alcanzan la madurez después de 5 meses y son capaces de reproducirse el primer otoño después de nacer (Uribe *et al.*, 1995). La actividad reproductiva en otoño es la estrategia común de las lagartijas del género *Sceloporus* (Guillette y Méndez de la Cruz, 1993).

7.3. Hábitos

Son de actividad diurna, saxícola y de comportamiento territorial, su área de actividad apenas abarca de tres a cinco metros de distancia respecto de las grietas de las rocas donde viven. Respecto a los hábitos alimentarios se ha observado que ambos sexos son fundamentalmente insectívoras; se han encontrado en su contenido estomacal insectos, arácnidos, isópodos, cienpiés y ocasionalmente lombrices de tierra. Sin embargo, también consumen materia vegetal: principalmente flores y frutos pequeños (durante todo el año). Durante la época de lluvias, las presas principales son dípteros, coleópteros, himenópteros, homópteros, lepidópteros (larvas) y hemípteros. En épocas de seca las presas más importantes son himenópteros, hemípteros, ortópteros, homópteros y coleópteros. En la época seca, las hembras consumen alrededor de la mitad del alimento consumido por los machos (Uribe-Peña *et al.*, 1999; Feria *et al.*, 2001).

8. JUSTIFICACIÓN

El sistema circadiano en los reptiles (a diferencia, por ejemplo, de los mamíferos, en donde el marcapasos principal reside en el NSQ) presenta la ventaja de tener múltiples osciladores, distribuidos en distintas regiones del SNC como son la glándula pineal, el ojo parietal, las retinas y la región del hipotálamo homóloga al NSQ. La dominancia entre cada uno de estos osciladores depende en gran medida de la especie. El hecho de que en este grupo de animales, los osciladores estén disociados, le permite ser un modelo para su estudio, ya que hace más fácil su manipulación *in vivo* e *in vitro*, pues permite un mejor acceso experimental para comprender la complejidad del acoplamiento entre los osciladores que forman parte del sistema circadiano, así como para reconocer las variables fisiológicas dominadas por cada uno de ellos.

El presente trabajo estudia en particular, la participación de la glándula pineal como uno de los componentes del sistema circadiano de una lagartija perteneciente al género *Sceloporus* y se apoya (entre otros) en los trabajos realizados por Underwood (1989) referentes al papel que juega la glándula pineal en el sistema circadiano de algunas lagartijas de dicho género, y donde muestra los efectos de la pinealectomía sobre los ritmos de actividad en libre curso; dicho autor, menciona que la pinealectomía puede causar marcados cambios en el periodo del ritmo en libre curso, en las lagartijas *S. olivaceus* y *S. occidentalis*, splitting en el ritmo de actividad entre dos grandes componentes circadianos también en la lagartija *S. olivaceus*, o bien, arritmia en la actividad locomotora de las lagartijas *S. olivaceus* y *S. occidentalis* y también en la lagartija *A. carolinensis*. La pinealectomía realizada en la lagartija *S. occidentalis* puede además causar una gran distorsión en la curva de respuesta de fase ante pulsos de luz.

Cabe mencionar que varias especies pueden exhibir más de una respuesta a la pinealectomía.

9. PROBLEMA

Se conoce que, en distintas especies de lacertilios, la pinealectomía abole la ritmicidad circadiana de la actividad locomotora, mientras que en otras especies sólo modifica el periodo de dicho ritmo circadiano (Underwood, 2001). En particular, se sabe que la lagartija *S. torquatus*, presenta un ritmo circadiano de actividad locomotora con fase diurna, sin embargo, no está claro el papel que juega la glándula pineal en el sistema circadiano de esta especie; de manera que, el estudiar el efecto de la pinealectomía sobre el registro de actividad locomotora (RALM) y sobre la capacidad de sincronización a la luz, que tenga dicha lagartija, nos permitirá conocer si también en esta especie, la glándula pineal regula el RALM como en otras especies de lacertilios del género *Sceloporus* (como por ejemplo: *S. olivaceus* y *S. occidentalis*).

10. OBJETIVOS

► Objetivos Generales.

1. Caracterizar el registro de actividad locomotora de lagartijas intactas de la especie *Sceloporus torquatus* en condiciones constantes de iluminación con luz blanca, condiciones constantes de iluminación con luz roja tenue y en ciclos de luz-obscuridad.

2. Observar el efecto de la pinealectomía sobre la expresión de la actividad locomotora de la lagartija *Sceloporus torquatus* en condiciones constantes de iluminación con luz blanca, condiciones constantes de iluminación con luz roja tenue y en ciclos de luz-obscuridad.

► **Objetivos específicos.**

1. Determinar los valores promedio de los parámetros del ritmo de actividad locomotora (τ , α/ρ , duración neta de actividad y máxima actividad después del inicio de α) de las lagartijas intactas sometidas a condiciones constantes de iluminación con luz blanca, condiciones constantes de iluminación con luz roja tenue y a ciclos de luz-obscuridad.

2. Determinar los valores promedio de los parámetros del ritmo de actividad locomotora de las lagartijas falsamente pinealectomizadas sometidas a condiciones constantes de iluminación con luz blanca, condiciones constantes de iluminación con luz roja tenue y a ciclos de luz-obscuridad.

3. Observar el efecto de la falsa pinealectomía sobre la expresión de la actividad locomotora de la lagartija *Sceloporus torquatus* y determinar si esta cirugía tiene alguna influencia trascendental en la expresión de la actividad locomotora de dicha lagartija.

4. Analizar los posibles cambios en los parámetros del ritmo de actividad locomotora de las lagartijas pinealectomizadas respecto de las lagartijas intactas en condiciones constantes de iluminación con luz blanca, condiciones constantes de

iluminación con luz roja tenue y en ciclos de luz-obscuridad y determinar si estos cambios se consideran o no, trascendentales en la capacidad de sincronización a los ciclos de luz-obscuridad y en la expresión de la actividad locomotora de *S. torquatus*.

11. HIPÓTESIS

Si la glándula pineal participa sólo como regulador secundario de la actividad locomotora en la lagartija *Sceloporus torquatus*, entonces, su extracción provocará cambios notables en la expresión del RALM y en su capacidad de sincronización a los ciclos de luz-obscuridad como sucede en las lagartijas *Sceloporus olivaceus* y *Sceloporus occidentalis*; de lo contrario, si participa como marcapasos en la regulación del RALM, entonces la pinealectomía inducirá arritmia en la actividad locomotora, como sucede, por ejemplo, en la lagartija *Anolis carolinensis*.

12. MATERIAL Y MÉTODO

12.1. Obtención y mantenimiento de las lagartijas

Las lagartijas examinadas en el presente trabajo fueron colectadas en la localidad de San Andrés Texcalyacác, Edo. de México. La captura se realizó con horquillas de hilo en caña, sujetando a las lagartijas por el cuello e introduciéndolas en bolsas de manta con jareta para su traslado al Laboratorio. Se capturaron un total de 17 lagartijas de la especie *Sceloporus torquatus* en estado juvenil y adulto sin distinción de sexo. Se mantuvieron en el Herpetario de la Facultad de Ciencias de la UNAM, durante al menos una semana en aclimatación mediante fotoperiodo natural en terrario y su dieta consistió en cucaracha *Blatella germanica*, larvas de escarabajo de tierra *Tenebrio molitor* y agua. Durante el periodo de registro fueron alimentados con larva de escarabajo de tierra *T. molitor* y agua *ad libitum*.

12.2. El registro de la actividad locomotora

Todos las lagartijas fueron colocadas en terrarios de vidrio de 31 x 18 x 21 y 31 x 11 x 10 cm. Los terrarios fueron dispuestos en casillas o compartimentos con interior en negro y con un sistema de ventilación de hélice con motor. El casillero se ubicó en las cámaras de ambiente controlado de la Facultad de Ciencias de la UNAM, a una temperatura de 24°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Se registró la actividad locomotora por medio de sensores infrarrojos adaptados al terrario (Fig. 2), cada interrupción del haz de luz representó un evento de actividad locomotora. Los datos fueron agrupados cada diez minutos y almacenados en

computadora hasta su análisis. El fotoperiodo en los terrarios, se controló mediante interruptores domésticos programables. Se usaron lámparas phillips de luz blanca (150 lx) durante los ciclos de luz-obscuridad (LO) y en regímenes de luz constante (LL). En regímenes de luz roja tenue constante (Llr) se utilizaron focos de luz roja (1lx). Esta unidad de iluminancia y esta longitud de onda, no llegan a alterar el curso del experimento como se observó en pruebas preliminares y luego entonces se consideró como un estado de obscuridad constante (Llr = 00) en este trabajo.

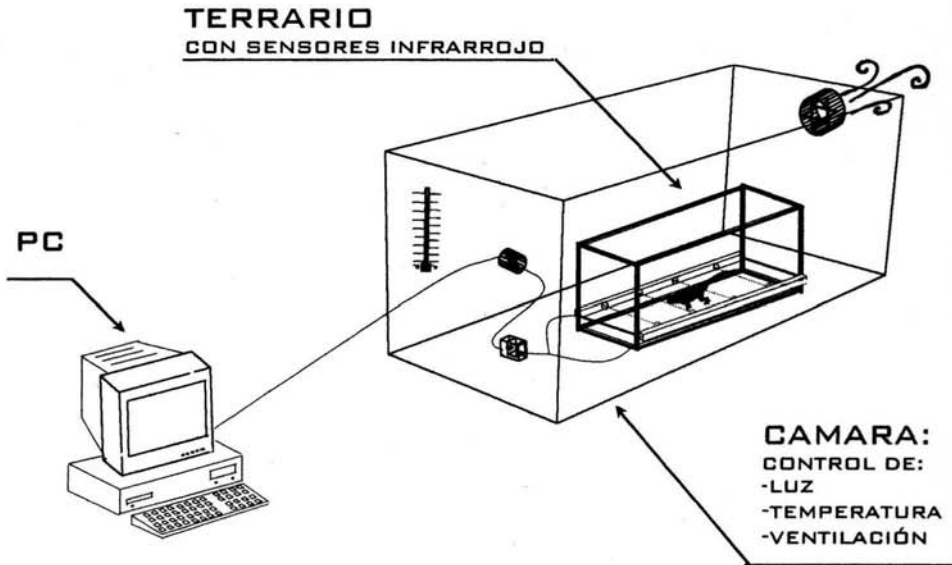


Fig. 2. Sistema de registro.

12.3. La Pinealectomía

Con el fin de observar el efecto de la pinealectomía sobre la expresión de la actividad locomotora de la lagartija *Sceloporus torquatus*, se realizaron un total de 8 pinealectomías mediante anestesia en frío bajo iluminación: primero se introdujo a la lagartija en un congelador (de refrigerador) y luego se colocó sobre una charola con trozos de hielo y se

cubrió con éstos dejando sólo la cabeza descubierta. Posteriormente se iluminó el área. Se hizo, con broca, una pequeña incisión sobre el cráneo, a la altura del ojo parietal del organismo destruyendo dicho órgano (Fig. 3 b), después se introdujo una pinza de punta fina para extirpar el pedúnculo pineal (Fig. 3 c), posteriormente la incisión fue sellada con petrolato. Las lagartijass se mantuvieron en observación durante 24 h.

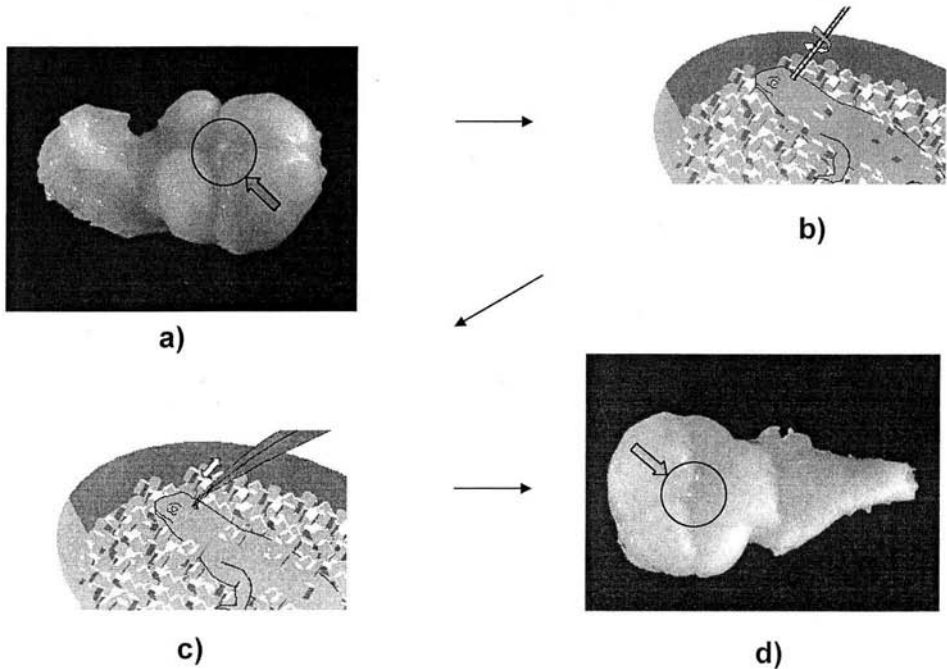


Fig. 3. a) Cerebro intacto (con glándula pineal) de *S. torquatus*, b) destrucción del ojo parietal e incisión en cráneo, c) extirpación del pedúnculo pineal, d) inspección visual de cerebro sin glándula pineal (lagartija pinealectomizada).

Al finalizar los registros (ver fig. 5), se sacrificaron algunas lagartijas para inspeccionar visualmente la correcta realización de la pinealectomía. Se extrajeron cerebros que fueron fijados en formol 10% para corroborar mediante inspección visual directa dicha cirugía (Fig. 3 d). Las glándulas pineales extirpadas también fueron fijadas en formol 10%.

12.4. La falsa pinealectomía (parietalectomía)

Con el fin de observar el efecto de la falsa pinealectomía sobre la expresión de la actividad locomotora de la lagartija *S. torquatus*, determinar si esta cirugía tiene alguna influencia trascendental en la expresión de la actividad locomotora de dicha lagartija y analizar los posibles cambios en los parámetros del ritmo de actividad locomotora de las lagartijas pinealectomizadas respecto de las lagartijas intactas, se realizaron también 5 falsas pinealectomías mediante anestesia en frío bajo iluminación (como se indicó anteriormente para la pinealectomía). Se creó igualmente una pequeña incisión sobre el cráneo, a la altura del ojo parietal de la lagartija y se introdujo la pinza sin extraer el pedúnculo pineal. Las lagartijas se mantuvieron en observación durante 24 horas.

12.5. Análisis de datos

Los datos fueron analizados con los programas DISPAC (Aguilar *et al.*, 1997) y TAU (Minimiter Co. Inc.) mediante actogramas de doble gráfica, el periodo (τ) del ritmo de actividad locomotora fue determinado mediante el periodograma de X^2 (Sokolove y Bushell, 1978). Con el fin de construir la curva promedio (Fig. 4) se determinaron los parámetros: nivel medio y actividad total, considerando los datos del ritmo en estado estable, de al menos 3 días. De la curva promedio se calcularon los parámetros de α/ϱ (índice de actividad y reposo), duración neta de actividad y pico de máxima actividad.

Las diferencias en el índice de actividad y reposo, así como del pico de máxima actividad y duración neta de actividad, fueron comparados en los animales antes y después de cada tratamiento por medio de la prueba de T de Student para variables dependientes. Los resultados obtenidos con una $P < 0.05$, fueron considerados como significativos.

El índice α/e , considera a α como la actividad por encima del nivel medio de ésta, y a e como la actividad por debajo del nivel medio. Por su parte la duración neta de actividad, comprende todo el tiempo en que se presenta el principal bloque de actividad en cada ciclo del ritmo manifiesto y puede ser igual o mayor que la duración de α (Fig. 4); ya que los valores de estos dos parámetros (duración neta de actividad y α) pueden aportar información distinta, ambos se consideraron en este trabajo.

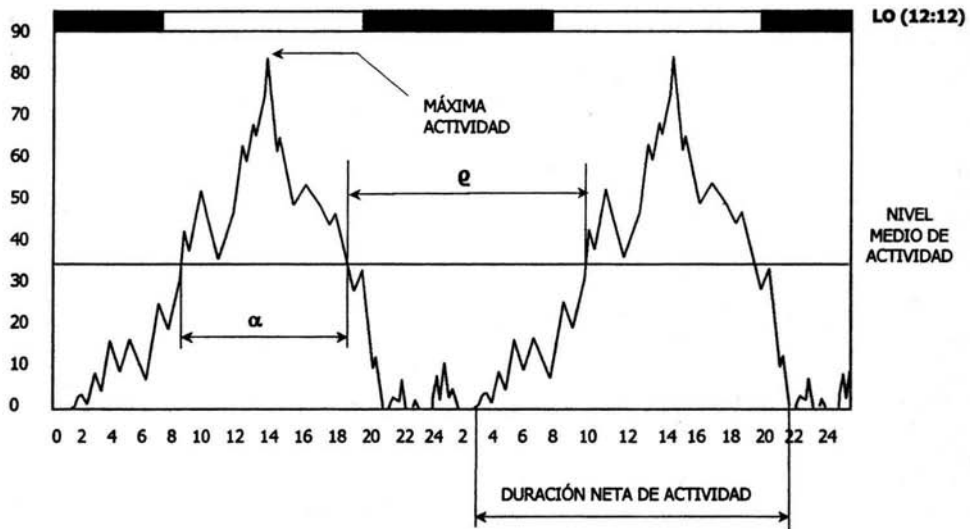


Fig. 4. Curva de actividad en donde se observa el nivel medio de actividad (línea horizontal) del cual se obtienen los valores α y e . También se observan los principales bloques de actividad en cada fase lumínica. (barras blancas).

12.6. Diseño experimental

Para conocer la forma en que participa la glándula pineal sobre la expresión del ritmo circadiano de actividad locomotora en la lagartija *S. torquatus* se diseñaron tres protocolos, uno de referencia y dos experimentales (Fig. 5 a, b, c).

Las diecisiete lagartijas capturadas fueron divididas igualmente, en tres grupos sin distinción de sexo: cuatro como grupo de referencia, trece como primer grupo experimental y de éste se tomaron cinco como segundo grupo experimental. La división fue en razón a la disposición de las lagartijas según la época de su captura y al deceso de las mismas durante el experimento.

Cada uno de los tres grupos de lagartijas fue sometido a un protocolo distinto como se explica a continuación.

Protocolo de referencia

Para el grupo de referencia se diseñó un protocolo que permitiera conocer la expresión de actividad locomotora de las lagartijas intactas en distintos regímenes. Estas 4 lagartijas estuvieron bajo un régimen de luz roja tenue constante (Lr) durante 23 días para pasar inmediatamente a un régimen de luz constante (LL) durante 27 días y finalmente, para observar su capacidad de sincronización, pasaron de continuo a un fotoperiodo de 12:12 (LO) durante 11 días, cumpliendo así un total de 61 días para después salir del protocolo de referencia (Fig. 5 a).

Con el fin de asear los terrarios, alimentar las lagartijas y que éstas tuvieran la visibilidad necesaria para tomar su alimento; y en general, para hacer revisiones periódicas del buen

funcionamiento del experimento, se utilizó luz roja tenue. La longitud de onda (luz roja) y la intensidad de iluminancia (1 lux) empleadas no representan un zeitgeber que altere el curso del experimento como se observó en pruebas preliminares.

Protocolo experimental 1

Para el primer grupo experimental se creó un protocolo experimental con el fin de conocer la respuesta de las lagartijas intactas ante diferentes regímenes, realizar las cirugías (pinealectomía y falsa pinealectomía) y regresar las lagartijas a los regímenes donde fueron colocadas inicialmente para conocer la respuesta de las lagartijas ya intervenidas y así ser ellas mismas sus propios testigos.

Para comparar de manera general, las variaciones que presentan los parámetros del ritmo de actividad locomotora de acuerdo con la estación del año, de las 13 lagartijas que conformaron este grupo, 5 fueron sometidas, durante la primavera, a un régimen de LO (fotoperiodo 12:12) durante 9 días para conocer su respuesta de sincronización a dicho fotoperiodo y después a un régimen de Llr durante 13 días, posteriormente salieron de registro para ser pinealectomizadas y se mantuvieron bajo observación durante 24 horas. Posteriormente reingresaron, ya intervenidas, al régimen de Llr durante 16 días y por último pasaron a un régimen de LO (fotoperiodo 12:12) durante 8 días para observar nuevamente su capacidad de sincronización (Fig. 5 b) cumpliendo así, un total de 47 días y salir del protocolo experimental 1.

Durante el verano, las 8 lagartijas restantes fueron sometidas a un régimen de LO (fotoperiodo 12:12) durante 11 días y después a un régimen de Llr durante 25 días, posteriormente salieron de registro y se realizó una pinealectomía a 3 lagartijas y una

falsa pinealectomía a 5 lagartijas y fueron puestas bajo observación durante 24 horas. Posteriormente, las 8 lagartijas intervenidas reingresaron al régimen de Lir durante 24 días y por último pasaron igualmente a un régimen de LO (fotoperiodo 12:12) durante 12 días para observar su capacidad de sincronización al fotoperiodo establecido cumpliendo así, un total de 73 días y salir del protocolo (Fig. 5 b).

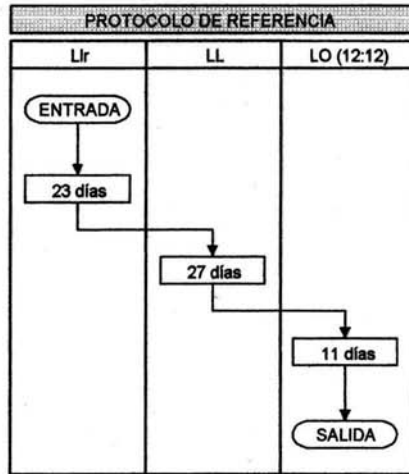
Protocolo experimental 2

Después de haberse sometido al protocolo experimental 1, el primer grupo experimental de primavera tuvo un periodo de recuperación de 17 días. Sobrevivieron 2 lagartijas (pinealectomizadas), las cuales, con el fin de conocer el efecto de la cirugía sobre la expresión de su actividad locomotora fueron sometidas a un régimen de LL durante 22 días para pasar inmediatamente a un régimen de Lir durante 15 días y salir del protocolo experimental 2 cumpliendo un total de 37 días (Fig. 5 c).

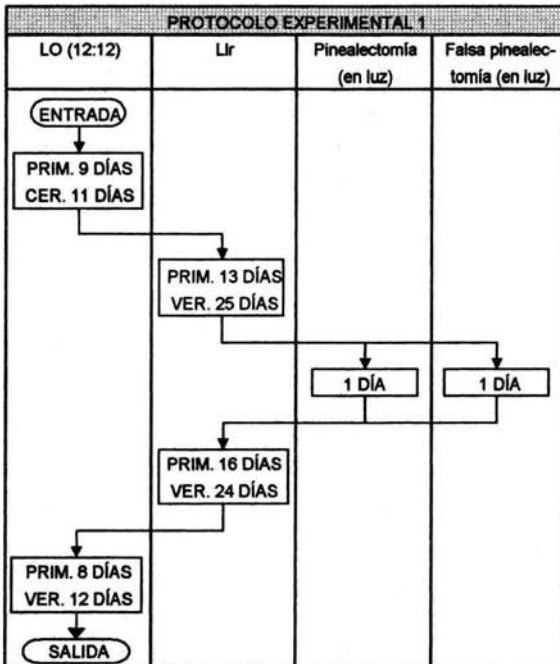
Respecto al grupo experimental 1 de verano, sobrevivieron 1 lagartija pinealectomizada y 2 lagartijas falsamente pinealectomizadas, que después de haber tenido un periodo de recuperación de 20 días se sometieron al segundo protocolo experimental con el fin de conocer el efecto de la cirugía sobre la expresión de su actividad locomotora en condiciones constantes de iluminación con luz blanca y luz roja tenue. Este protocolo experimental constó de un régimen de LL durante 36 días y después un régimen de Lir durante 11 días y salir de dicho protocolo registrando un total de 47 días (Fig. 5 c).

El criterio para establecer el número de días en cada régimen fue el poder observar, en el actograma, un patrón claro y más o menos completo de alguna respuesta determinada.

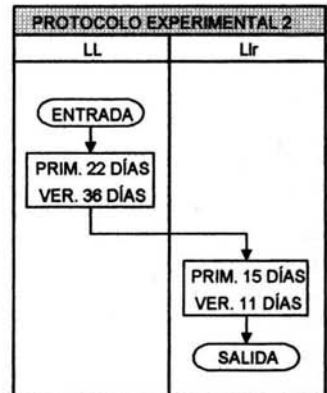
Por otra parte, para tener una visión de conjunto, en la figura 6 se muestra la calendarización de los protocolos de referencia y experimentales junto con la ubicación estacional de los eventos del ciclo reproductivo de la lagartija *S. torquatus*.



(a)



(b)



(c)

Figura 5. Diagramas de flujo de los protocolos de referencia y experimentales.

CALENDARIZACIÓN DE PROTOCOLOS DE REFERENCIA Y EXPERIMENTALES
 Y
 CICLO REPRODUCTIVO DE *Sceloporus torquatus*

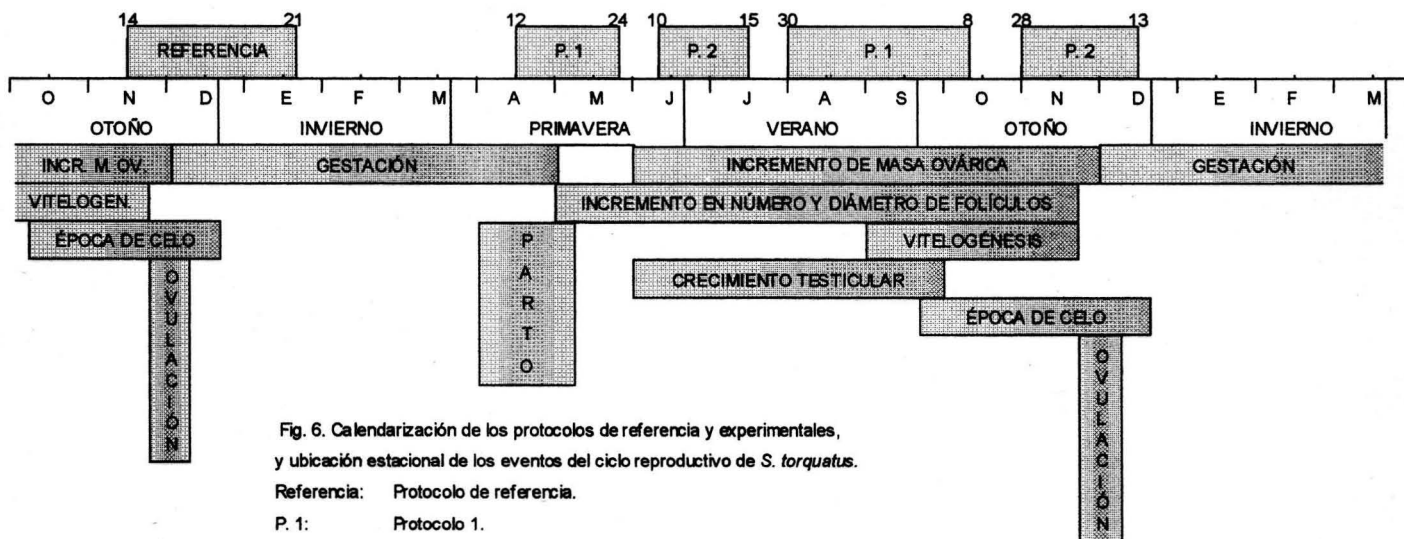


Fig. 6. Calendarización de los protocolos de referencia y experimentales, y ubicación estacional de los eventos del ciclo reproductivo de *S. torquatus*.

Referencia: Protocolo de referencia.

P. 1: Protocolo 1.

P. 2: Protocolo 2.

13. RESULTADOS

13.1. Características generales del RALM en lagartijas intactas

La cirugía realizada a las lagartijas consistió realmente en una parietalectomía (par-x) y una pinealectomía (pin-x). Para efecto de simplificación, aquí será mencionada sólo como pinealectomía. Para el mismo efecto, al referirse a la parietalectomía se mencionará como falsa pinealectomía.

13.1.1. Lagartijas intactas

Las lagartijas intactas expuestas a condiciones de Llr, LL y LO presentaron, para los parámetros τ , α/ρ , actividad neta y máxima actividad después de α , los valores promedio que se muestran a continuación en la tabla 1.

TABLA 1				
LAGARTIJAS INTACTAS				
	τ	α/ρ	Actividad neta (h)	Máxima actividad después del inicio de α
Llr	24.23 \pm 0.86	0.56 \pm 0.105	11.77 \pm 2.165	6.39 \pm 1.63
LL	25.3 \pm 3.1	—*	—*	—*
LO	23.91 \pm 0.241	0.72 \pm 0.217	12.01 \pm 1.801	6.51 \pm 3.25

* En condición de LL, las lagartijas presentaron arritmicidad en su actividad locomotora (ver fig. 8) de manera que estos parámetros no se cuantifican.

De las 17 lagartijas de la especie *S. torquatus* estudiadas en el presente trabajo, 6 lagartijas presentaron una $\tau < 24$ h, 10 lagartijas presentaron una $\tau > 24$ h y sólo una lagartija presentó una $\tau = 24$ h, en libre curso.

Las figuras 7 y 8 presentan casos típicos de actividad locomotora en las lagartijas intactas cuando son sometidas a condiciones de LO, Llr y LL. En la figura 7 se observa que para la condición de LO (12:12) la lagartija presenta una $\tau = 24$ h y al soltarla en oscilación espontánea (condición Llr), se inducen cambios significativos en el periodo del ritmo y éste se incrementa expresando un valor de $\tau = 24.4$ h.

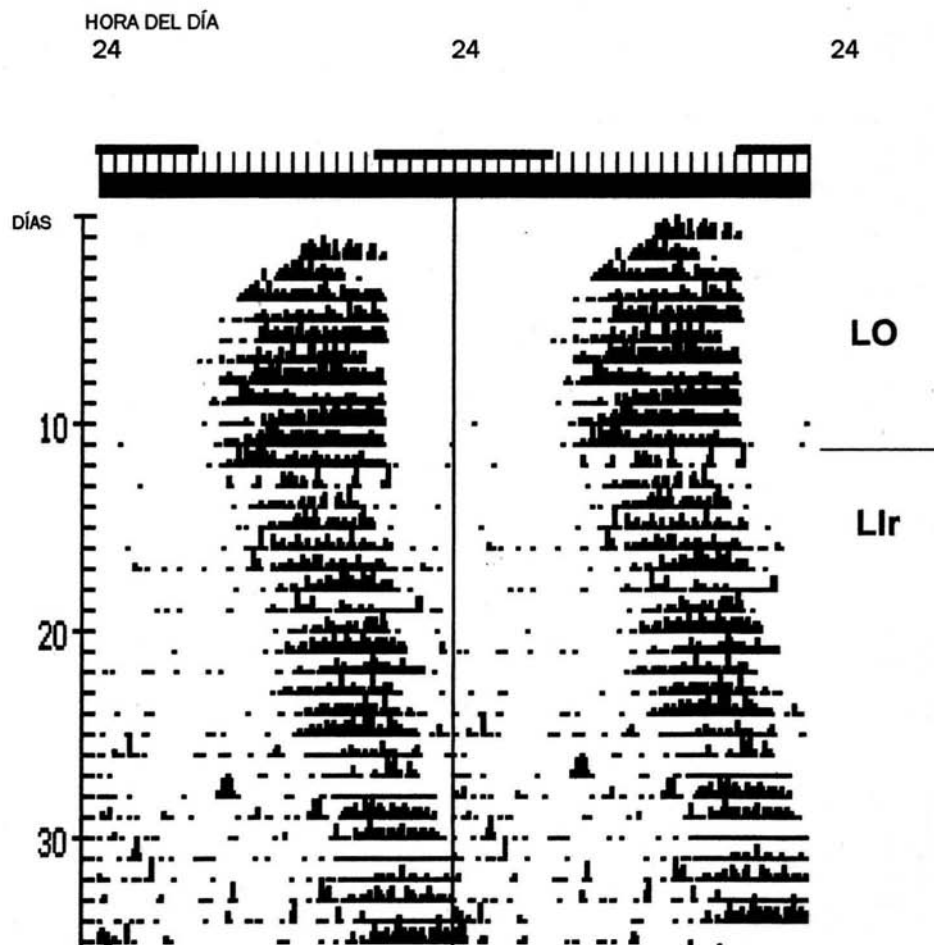


Fig. 7. Caso típico del RALM en lagartijas intactas en condiciones de LO y Llr (diagrama de flujo b, fig. 5). Nótese el cambio en la velocidad angular del periodo del ritmo cuando cambia la condición.

En la figura 8 se observa el ejemplo de una lagartija en oscilación espontánea que presenta ritmo en su actividad locomotora con una $\tau = 25.25$ h, pero al pasar a condición de LL muestra arritmia en dicha actividad.

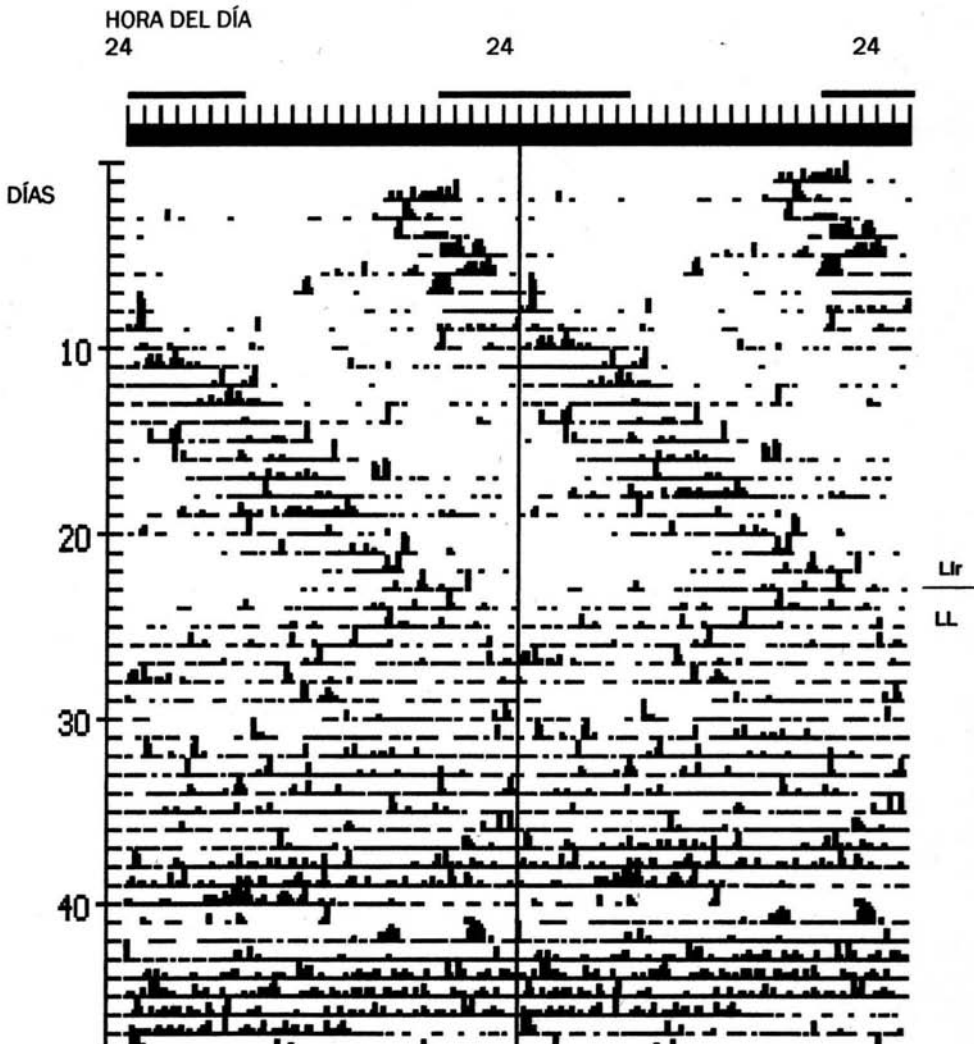


Fig. 8. Respuesta típica al cambiar de condición (de Lir a LL) en lagartijas íntactas (diagrama de flujo a, fig. 5).

13.1.2. Particularidades.

Una lagartija presentó un patrón de ritmicidad con una $\tau = 22.2$ h (periodo corto) al menos durante 7 días a pesar de esperar arritmia en condición de LL, y en los días siguientes de LL, mostró una fase inestable con poca actividad (Fig. 9).

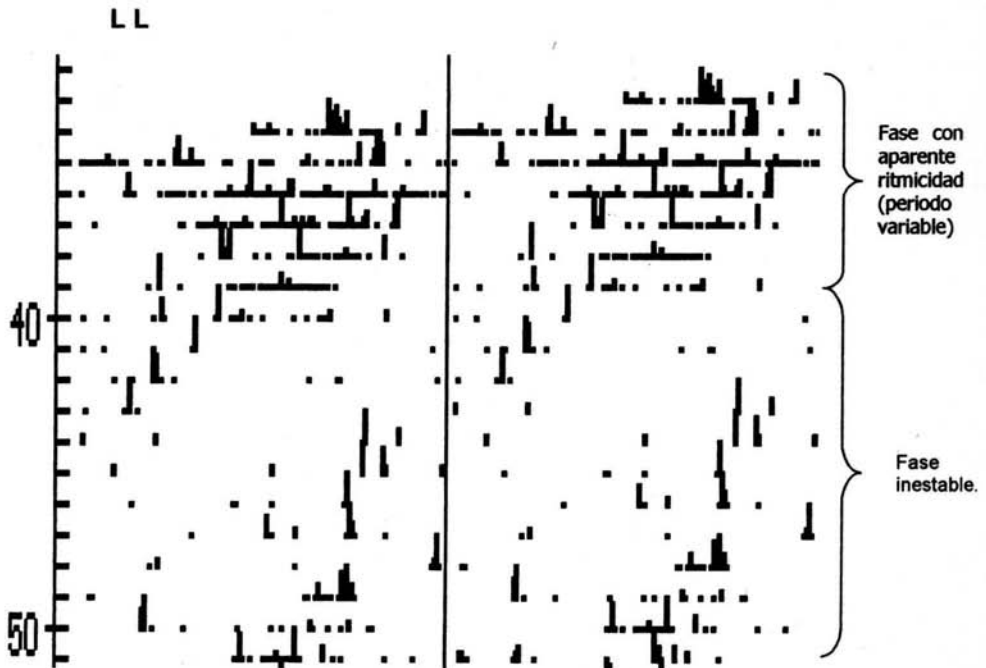


Fig. 9. Fase inestable y periodo variable en distintos segmentos del RALM de una lagartija intacta, en condición de LL (diagrama de flujo a, fig. 5).

Otro caso particular se presentó cuando, a diferencia de la respuesta típica en condición de Lir, una lagartija mantuvo el periodo del ritmo con un valor de 24.2 h, muy cercano al fotoperiodo artificial de 24 h en condiciones de LO (Fig. 10).

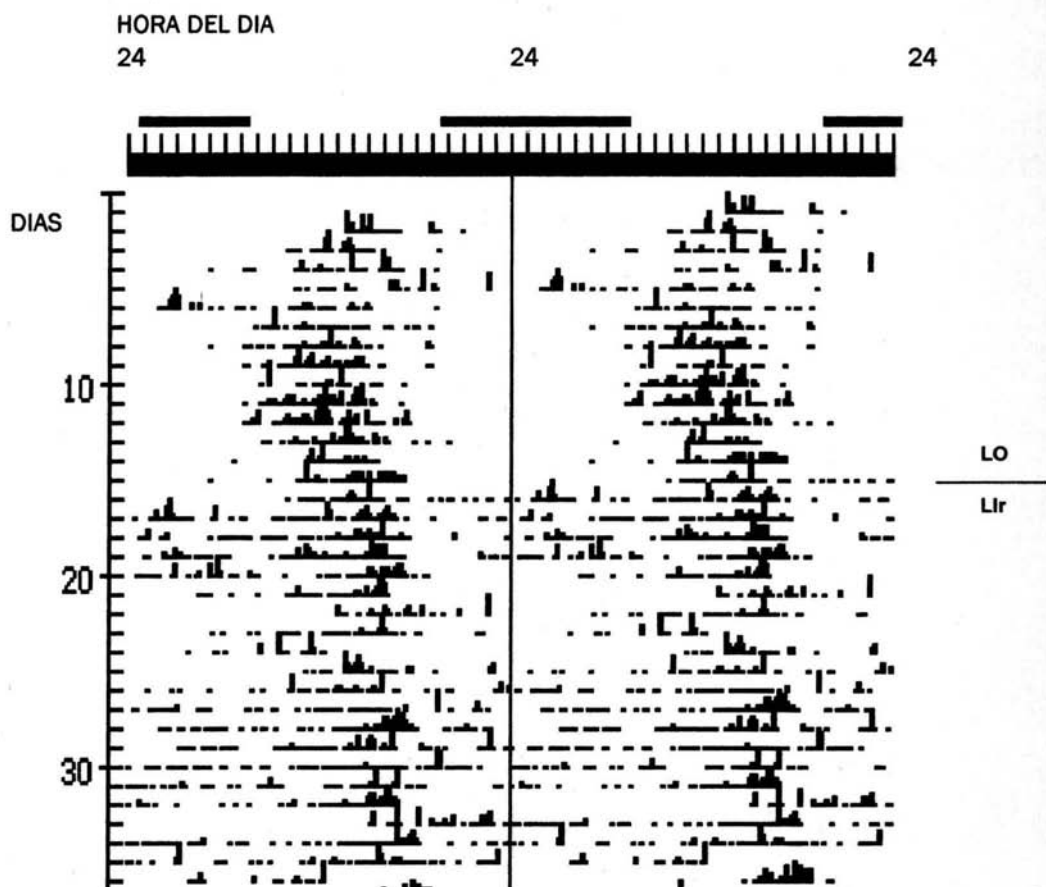


Fig. 10. El valor del periodo de una lagartija intacta permanece muy cercano a 24 h, aún cuando pasa a una condición de Lir (diagrama de flujo b, fig. 5). A pesar de presentarse actividad dispersa en Lir, se distingue claramente una fase de actividad (zona vertical más oscura).

13.2. Efecto de la falsa pinealectomía sobre el RALM

13.2.1. Generalidades

De modo general, el ritmo de actividad locomotora persiste después de la falsa pinealectomía. El valor del periodo del ritmo en libre curso se mantiene sin diferencias significativas antes y después de la lesión control (Fig. 11 y tabla 3).

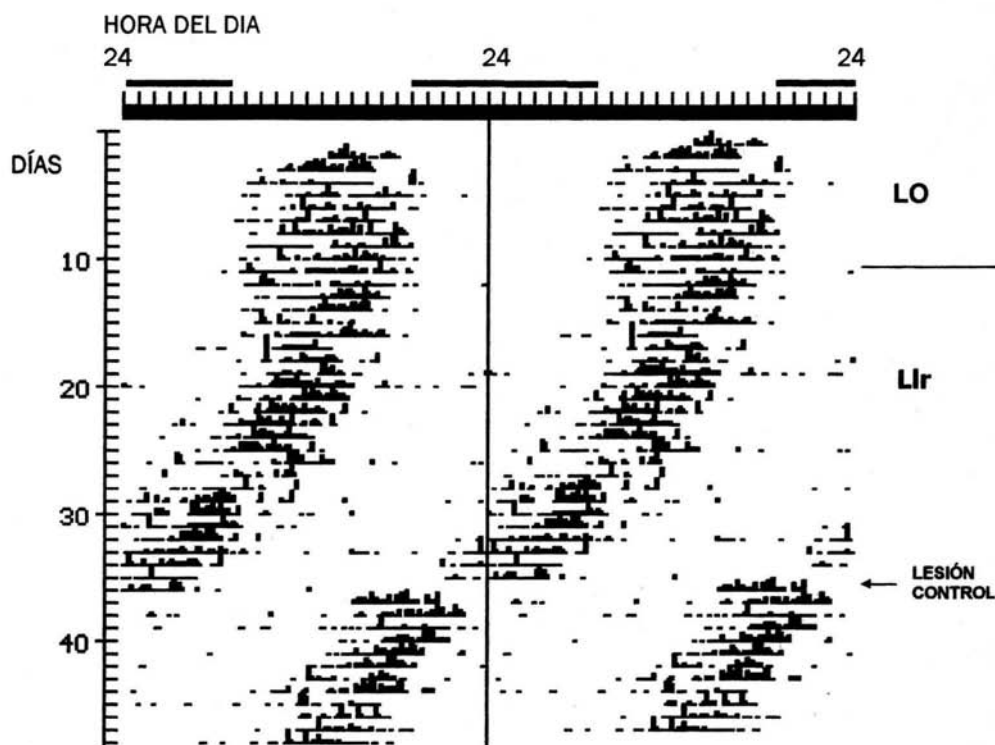


Fig. 11. RALM de una lagartija antes y después de la lesión control. Se observa un cambio de fase inducido en el ritmo de actividad (zona sin registro que se encuentra a la altura del señalamiento de la lesión control) debido a que la lesión control se realizó bajo luz (ver fig. 5 b).

13.2.2. Parámetros generales

Las lagartijas falsamente pinealectomizadas expuestas a condiciones de LO, Llr y LL presentaron, para los parámetros τ , α/q , actividad neta y máxima actividad después de α , los valores promedio que se muestran a continuación en la tabla 2.

TABLA 2				
LAGARTIJAS FALSAMENTE PINEALECTOMIZADAS				
VALOR PROMEDIO \pm DESVIACIÓN ESTÁNDAR				
	τ	α/q	Actividad Neta (h)	Máxima actividad después del inicio de α
Llr	24.36 \pm 0.263	0.66 \pm 0.260	12.285 \pm 2.44	7.285 \pm 1.621
LO	23.95 \pm 0.191	0.72 \pm 0.047	11.59 \pm 0.377	5.704 \pm 0.852
LL	23.8 *	1.018 *	15.203 *	7.655 *

* Los valores corresponden a la única lagartija con lesión control, que sobrevivió.

13.2.3. Variación en los parámetros respecto de la condición de intactos.

La lesión control no provocó cambios significativos en las lagartijas, éstas sólo presentaron ligeras variaciones en los valores promedio obtenidos para los parámetros señalados, respecto a su condición de intactas (tabla 3).

TABLA 3			
COND.	PARÁMETRO	ORG. INT.	ORG. LESIÓN CONTROL
Llr	τ	24.23 \pm 0.86	24.36 \pm 0.654
	α/q	0.56 \pm 0.105	0.4 \pm 0.045
	Duración neta	11.77 \pm 2.165	10.07 \pm 1.291
	Máxima actividad	6.39 \pm 1.63	6.06 \pm 4.972
LO	τ	23.91 \pm 0.241	23.95 \pm 0.191
	α/q	0.72 \pm 0.217	1.45 \pm 0.911
	Duración neta	12.01 \pm 1.801	15.06 \pm 4.05
	Máxima actividad	6.51 \pm 3.25	6.05 \pm 1.048

13.2.4. Particularidades

En condiciones de LO, el inicio de la actividad en las lagartijas falsamente pinealectomizadas varió según la lagartija, presentándose desde el inicio de la hora del encendido hasta 2.5 horas aproximadamente, después del encendido de la luz (Fig. 12 a y b).

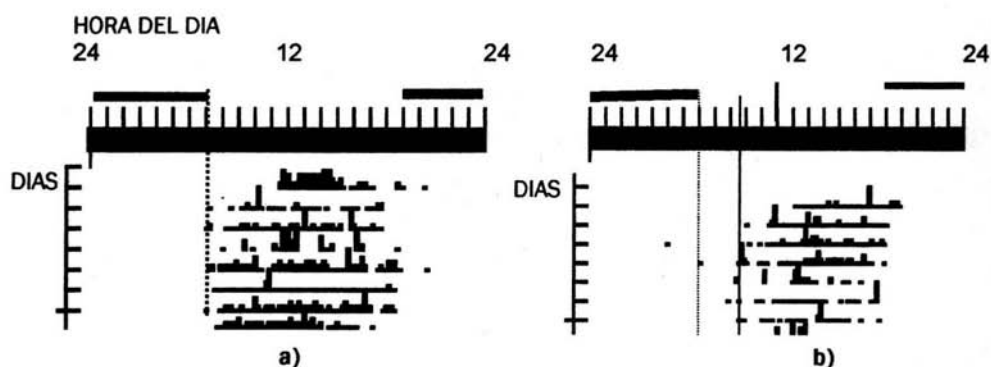


Fig. 12. Variación en el momento de inicio de la actividad locomotora después de la lesión control (Fig. 5 b). Las líneas punteadas indican el encendido de la luz y la línea continua indica la hora promedio del inicio de actividad en b).

Debido a que la cirugía se realizó bajo luz, fue posible observar el cambio de fase inducido en el ritmo de actividad, así mismo se observa un decremento en la magnitud de la fase activa del animal (Fig. 13).

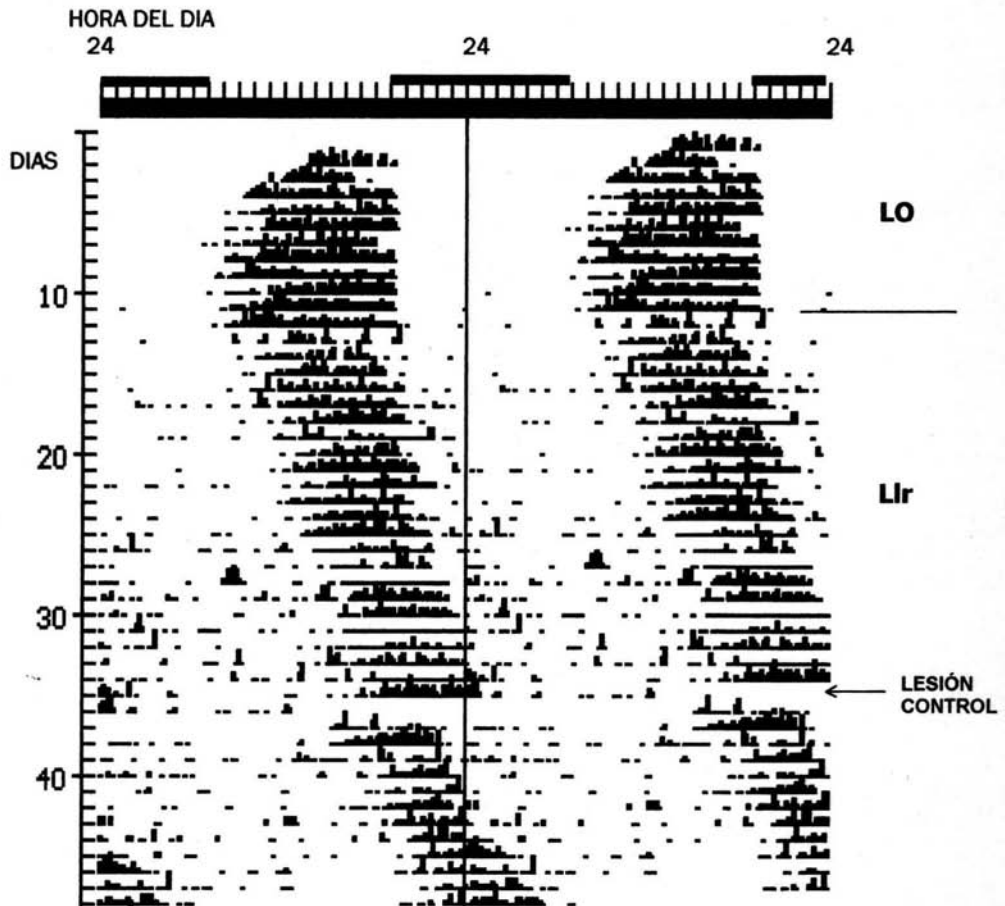


Fig. 13. Caso particular del RALM de una lagartija donde se observa un cambio de fase y un acortamiento en la duración neta de actividad después de la lesión control (Fig. 5 b). La flecha muestra el momento en que la lagartija sale de registro y se le realiza la lesión control.

13.3. Efecto de la pinealectomía (pin-x) sobre el RALM

13.3.1. Efecto de pin-x en condición de Llr (ritmo en libre curso)

La pinealectomía provocó cambios en la expresión del RALM, principalmente en el periodo del ritmo manifestado, como se observa en la figura 14.

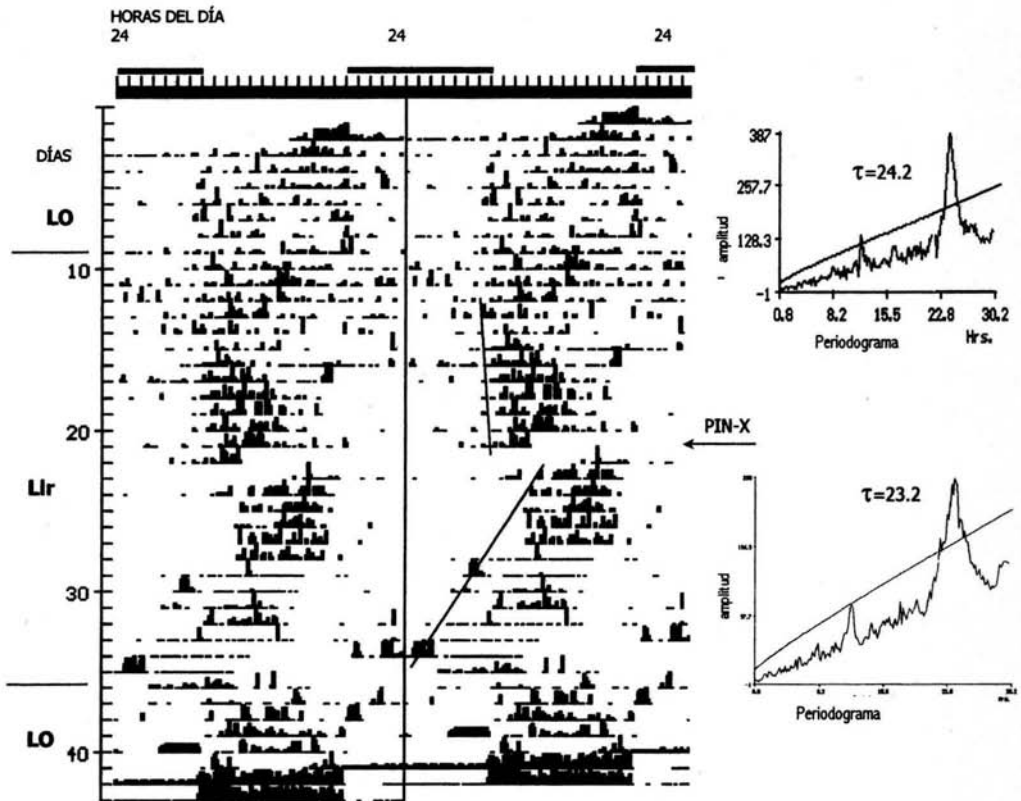


Fig. 14. Regulación del RALM de una lagartija antes y después de la pinealectomía (Fig. 5 b; ver también fig. 15). Las líneas rectas indican el ajuste visual de los periodos, al inicio de cada fase de actividad. El valor exacto de τ se comprueba en los periodogramas correspondientes a cada caso (antes y después de pin-x).

El efecto causado por la pinealectomía sobre la expresión del RALM de las lagartijas en libre curso provocó que el valor del periodo aumentara en algunos casos y disminuyera en otros (Fig. 15), y la magnitud neta de variación del periodo fue desde 0.2 hasta 1.2 h (Fig. 16).

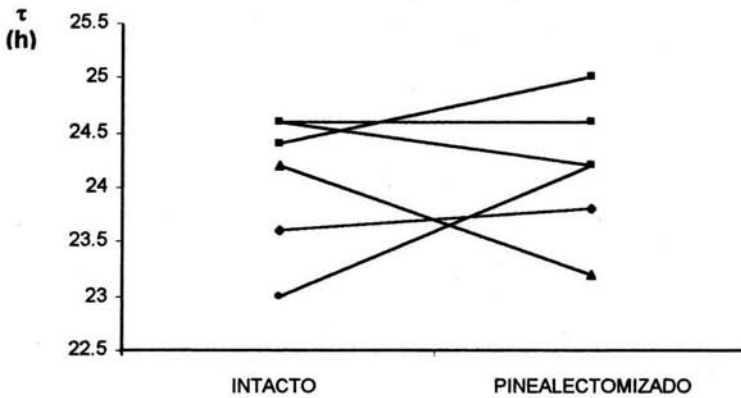


Fig. 15. Diferencias en el periodo del ritmo en libre curso bajo luz roja tenue antes y después de la pinealectomía.

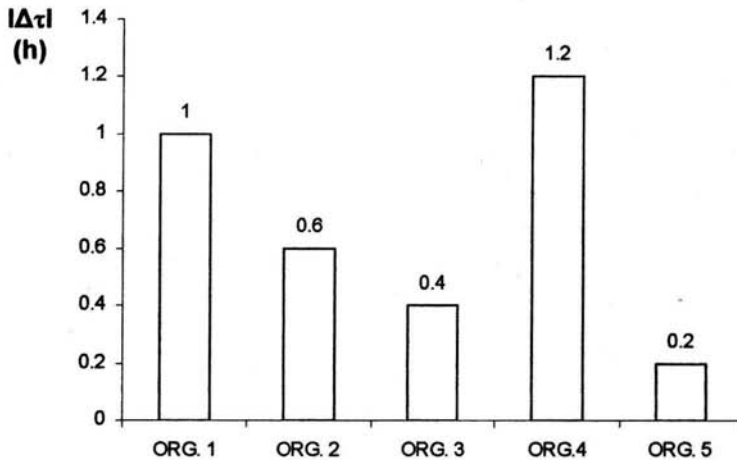


Fig. 16. Magnitud neta de variación del periodo ($|\Delta\tau|$ [h]) que mostraron las lagartijas entre el antes y el después de la pinealectomía.

Otro efecto causado por la pinealectomía sobre la expresión del RALM de las lagartijas en libre curso fue que el valor del índice α/ϱ disminuyera significativamente en cuatro lagartijas, mientras que en otras dos se observó un ligero incremento no significativo (Fig. 17).

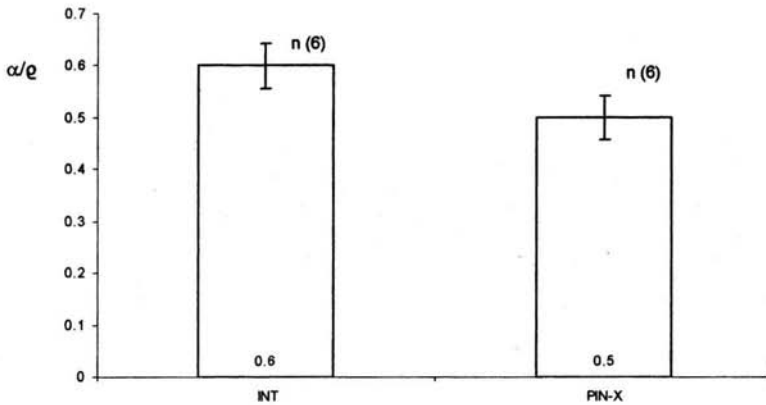


Fig. 17. Efecto causado por la pinealectomía en el valor promedio (\pm desv. est.) del índice α/ϱ en lagartijas sometidas a condición Llr. $P > 0.05$.

Un efecto más causado por la pinealectomía sobre el RALM se observa en la actividad máxima después del inicio de α . Este punto de máxima actividad se presentó, en promedio, en una hora distinta, teniendo una diferencia significativa (Fig. 18).

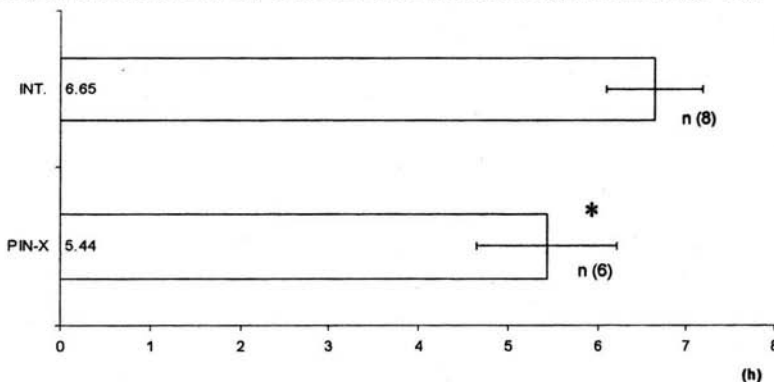


Fig. 18. Variación de la hora promedio (\pm desv. est.) en que se presenta la máxima actividad después del inicio de α como efecto de la pinealectomía sobre el RALM de lagartijas en condición de Llr. * $P < 0.05$.

Por su parte, la duración neta de actividad de las lagartijas en condición de Llr presentó un valor promedio distinto después de la pinealectomía, lo cual fue una diferencia significativa (Fig. 19).

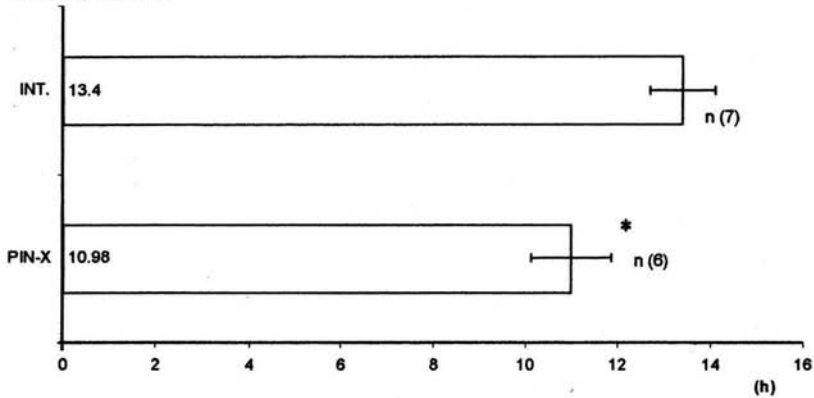


Fig. 19. Efecto de la pinealectomía sobre el RALM expresado en términos del promedio (\pm desv. est.) de la duración neta de actividad en condiciones de Llr. * $P < 0.05$.

13.3.2. Efecto de pin-x en condición de LO

En una condición de LO (12:12), las lagartijas también presentaron diferencias en los valores promedio de la duración neta de actividad entre el antes y el después. La gráfica muestra los valores promedio con una diferencia significativa (Fig. 20).

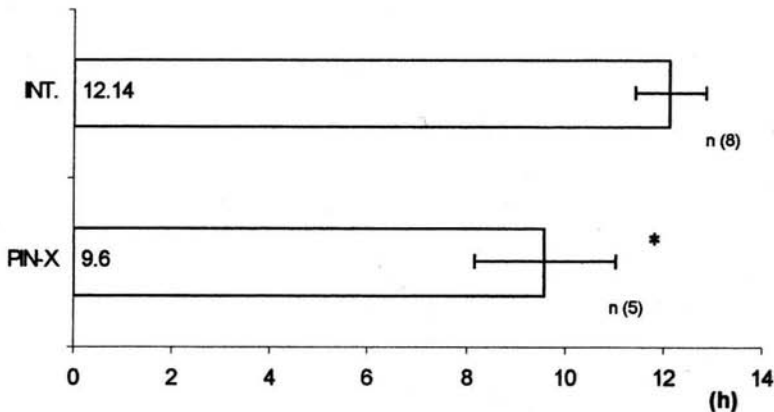


Fig. 20. Variación en el valor promedio de la duración neta de actividad como efecto de pin-x sobre el RALM de lagartijas en condición de LO. * $P < 0.05$.

13.3.3. Efecto de pin-x en condición de LL

En condición de LL también se presentaron efectos de pin-x sobre el RALM, en los tres casos se presentó arritmia y en uno se observó un aparente splitting durante los primeros diez días del registro (Fig. 21).

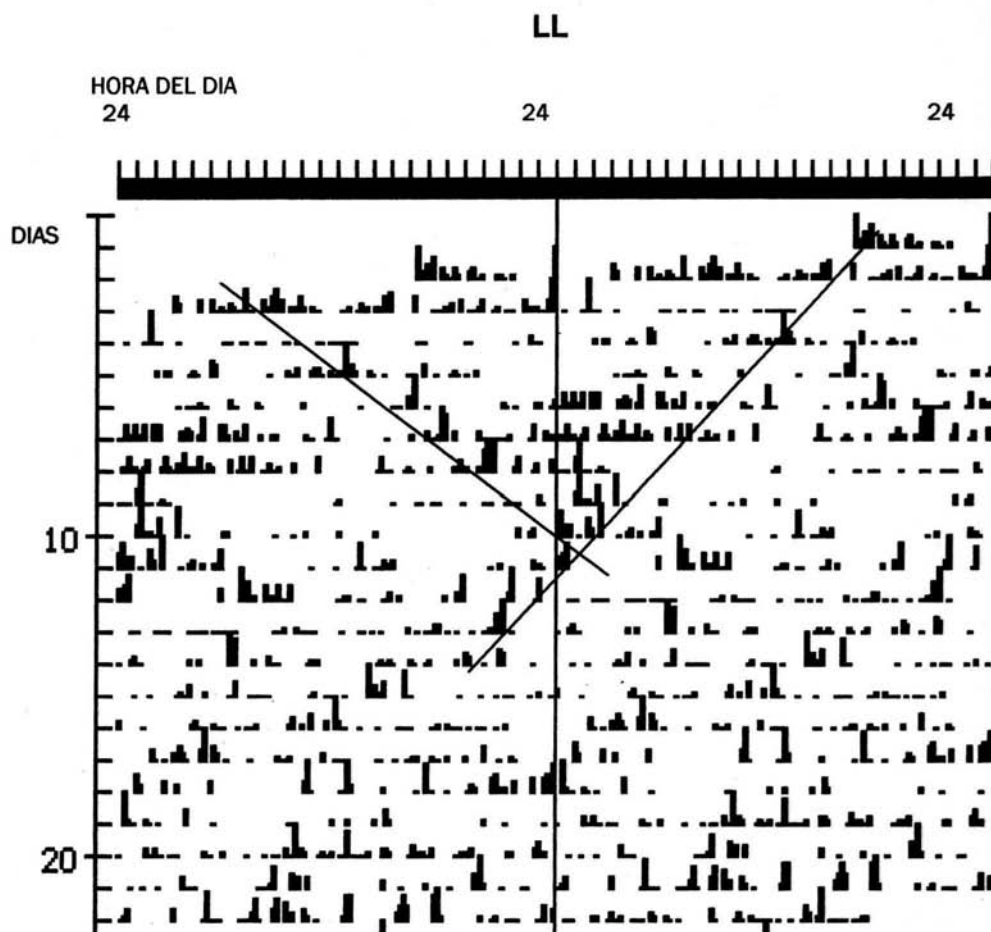


Fig. 21. Efecto de la pinealectomía sobre la expresión del RALM en condición de LL (Fig. 5 c). Las líneas rectas representan la tendencia de dos aparentes grupos de actividad con distinto periodo (aparente splitting).

13.4. Expresión del RALM durante la primavera y durante el verano, de lagartijas intactas y pinealectomizadas

A pesar de que inicialmente no se contempló observar variaciones en los parámetros de acuerdo con la estación del año, se pudieron detectar algunas diferencias en los RALM's de lagartijas intactas y pinealectomizadas entre las estaciones de primavera y verano. En condiciones constantes de luz roja tenue como en ciclos de luz-obscuridad, se observó una tendencia general a influir más durante el verano que durante la primavera, en tres de los cuatro parámetros estudiados.

Una de las diferencias quizá más notorias se observó por ejemplo, en la relación α/e , en donde los valores promedio de primavera, presentaron una variación respecto de los valores promedio de verano, tanto en las lagartijas intactas como en las pinealectomizadas, en condiciones constantes de luz roja tenue (Fig. 22).

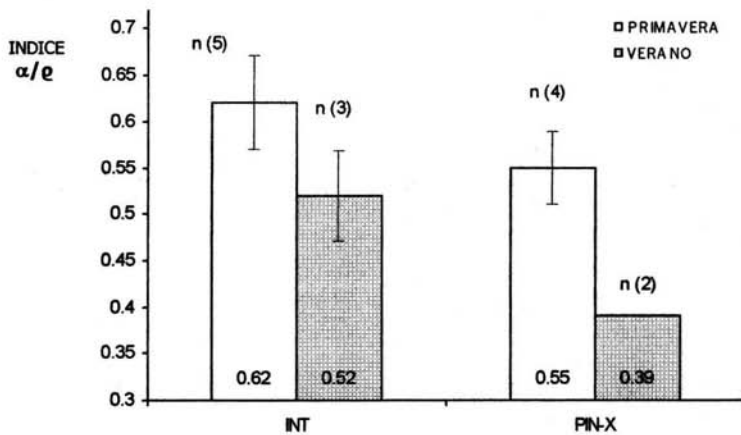


Fig. 22. Diferencias en los valores promedio de α/e antes y después de la pinealectomía, en condición de Lir de acuerdo a la estación del año. $P > 0.05$.

En condición de LO (12:12), el valor promedio de la duración neta de actividad fue menor durante el verano tanto en las lagartijas intactas como en las pinealectomizadas, y la variación mayor entre estas dos condiciones se dió también durante el verano. Además después del encendido de la luz, las lagartijas intactas y pinealectomizadas mostraron un pico de máxima actividad en horas diferentes según la estación, la diferencia mayor se presentó durante el verano.

14. DISCUSIÓN

14.1. Lagartijas intactas

14.1.1. Ritmo en libre curso

De acuerdo con estudios realizados en otras especies de lacertilios, se han reportado patrones representativos de actividad locomotora de *S. olivaceus* y *A. carolinensis* que presentan un ritmo con un periodo menor de 24 h en libre curso, mientras que *S. occidentalis* presenta también en libre curso, un ritmo con un periodo mayor a 24 h (Underwood, 2001), semejante al valor promedio mostrado en el presente trabajo para *S. torquatus*: $\tau = 24.23 \pm 0.86$.

Se pueden establecer patrones generales con base en valores promedio de periodos en libre curso, pero la respuesta de cada lagartija varía según sus propias condiciones fisiológicas y ontogenéticas, de manera que podemos encontrar periodos mayores o menores a 24 h cuando las lagartijas están en condiciones de libre curso; esto explica el porqué, de las 17 lagartijas de la especie *S. torquatus* estudiadas en el presente trabajo, 6 lagartijas presentaron una $\tau < 24$ h, 10 lagartijas presentaron una $\tau > 24$ h y sólo una lagartija presentó una $\tau = 24$ h, en libre curso; esto último, posiblemente debido a que no se tienen suficientes días de registro en los que se observe un periodo distinto que detecte el análisis por periodograma.

De manera convencional, se considera que los organismos cuyos ritmos presentan periodos mayores a 24 h son típicamente diurnos según la regla de Ashoff (Moore-Ede *et al.*, 1985), sin embargo, la variabilidad en el valor del periodo del ritmo entre las lagartijas

colectadas indica que dicho periodo en libre curso, no es constante en esta especie; sin embargo, esto pudo ser producto del estrés inducido por el cautiverio. La variabilidad en el periodo del ritmo en libre curso es de esperarse en animales que no son criados con el estricto control que sucede con las especies criadas en bioterios.

El valor promedio del índice $\alpha/p = 0.56 \pm 0.02$ indica que, de manera general, las lagartijas tienen una actividad intensa (por encima del valor promedio durante casi un tercio del día). Sin embargo la actividad neta tuvo un valor promedio de 11.76 ± 0.52 h. Esto significa que la forma en que fue considerada la magnitud de α no es directamente proporcional a la actividad total que presenta la lagartija en un ciclo, sino que se refiere a la actividad presente por encima del valor promedio indicado por la curva de actividad.

El pico de máxima actividad observado en el ritmo en libre curso, se presentó aproximadamente 6 horas y media después del inicio de actividad. Esta fase es semejante a la observada bajo la influencia de los ciclos de luz-obscuridad, lo que pudiera estar relacionado con un lapso de tiempo en el que, la mayor actividad está presente y la búsqueda de alimento es más eficiente para la lagartija en su medio natural. Sin embargo es importante recordar que las condiciones de laboratorio, distan significativamente de las condiciones naturales, en las cuales el animal presenta porciones de tiempo en que se encuentra más activo por la búsqueda de alimento, defensa del territorio, asoleo, etc. Estas fracciones de tiempo se definieron así: de 10 a 12 a.m. y de 4 a 6 p.m., de manera general (observaciones personales); por lo que existen variables no consideradas en este estudio, que pudieran influir sobre los momentos en que se presenta la máxima actividad en esta lagartija, como el efecto del estrés por el cautiverio, la manipulación, el cambio de dieta, la indistinción de sexo, etc.

14.1.2. Efecto de la luz constante

Como respuestas a condiciones de LL, se presentaron patrones de arritmia con un caso particular de expresión parcial del ritmo. Se observó que, después de ser sometido a condiciones constantes de luz, una de dos lagartijas presentó un ritmo con fase inestable y periodo variable en distintos segmentos del registro. Sin embargo, de manera general podemos decir que las dos lagartijas presentaron como respuesta a esta condición, un patrón de arritmia.

Es posible que, si diversos osciladores contribuyen al ritmo y que, en condiciones constantes, ellos se desacoplan y oscilan libremente de manera independiente, el ritmo manifiesto no pueda verse como un ritmo circadiano coherente. El reloj que conduce el ritmo puede funcionar, pero los eventos rítmicos que controla, pueden desacoplarse desde el reloj, a fin de que no se vea como un ritmo evidente (Revisado en Moore-Ede, 1982). O bien, probablemente éste sea el caso en el que se muestra el efecto del marcapasos responsable cuando detiene su curso (aunque esto último no se ha comprobado).

Cabe señalar que en este trabajo la intensidad de la luz utilizada en el laboratorio fue menor a la que puede proporcionar el sol en un día despejado, sin embargo la falta de ciclicidad en la exposición a la luz puede ser más importante que la intensidad de la misma. Lo anterior sugiere un nuevo diseño experimental en dónde explorar intensidades luminosas más bajas y así detectar el umbral como causa de arritmia.

14.1.3. Sincronización

El ritmo de actividad locomotora de algunas lagartijas intactas bajo condiciones de ciclos de luz-obscuridad (12:12) muestra que la actividad comienza poco después del encendido de la luz y se mantiene a lo largo de la fotofase. Sin embargo, el apagado de la luz induce súbitamente al término de la actividad, lo cual parece indicar que el ciclo LO enmascara la magnitud real del periodo de actividad (p. ej. figs. 7 y 13). Esto permite especular que en condiciones de una magnitud de fotofase mayor, esperaríamos se expresara, la magnitud real del periodo de actividad que presumiblemente es mayor y por consecuencia el periodo del ritmo, también. Lo que a su vez estaría de acuerdo con la regla de Ashoff, en el sentido de que pudiera tratarse efectivamente de un organismo diurno por tener un periodo mayor a 24 h.

Sin embargo, ni la regla de Ashoff, ni el hecho de que algunas lagartijas pudieran cumplir esta regla, impide que algunas otras lagartijas presenten una magnitud menor en su periodo de actividad (como sucede con algunas lagartijas aquí estudiadas), pues, como ya se ha dicho, posiblemente, el periodo del ritmo en libre curso, en esta especie, no sea constante.

La distribución de la actividad a lo largo de la fotofase presenta un pico poco después de las seis horas de haber iniciado α . Esta fase de máxima actividad es semejante a lo observado en condiciones constantes de iluminación con luz roja tenue, lo que hace suponer que esta fase está regulada por el mecanismo de control circadiano de la lagartija.

14.2. Falsa pinealectomía

La falsa pinealectomía no produce efectos significativos en la mayoría de los animales sometidos a este tratamiento, lo que hace suponer que si el ojo parietal en esta especie representa un oscilador independiente, como en el caso de la iguana verde (Tosini y Menaker, 1998), no tiene una influencia trascendental en la regulación circadiana del periodo del ritmo de la actividad locomotora de la lagartija *S. torquatus*.

La influencia de la falsa pinealectomía sobre el periodo del ritmo fue indistinguible (Fig. 11). Pese a que, de manera general, no existen diferencias significativas en la magnitud de α del ritmo en libre curso, se observó, en una de las cinco lagartijas falsamente pinealectomizadas (Fig. 13), que después de dicha cirugía, la magnitud de α se acorta sin observarse un cambio significativo en el periodo del ritmo.

De manera igualmente particular, se observó que en otra lagartija (de las cinco), el inicio de actividad con respecto al encendido de la luz, se presenta aproximadamente dos horas y media después; lo que hace suponer que el ojo parietal además de tener posibles funciones en los mecanismos de regulación térmica y reproductiva, también pudiera estar involucrado en la regulación de la fase del ritmo de actividad locomotora durante la sincronización (Fig. 12 b).

14.3. Pinealectomía

El efecto de la pinealectomía sobre el ritmo de actividad locomotora en *S. torquatus* se observó principalmente en el cambio del periodo del ritmo en condiciones constantes de

luz roja tenue, indicando que la glándula pineal en esta especie no es el oscilador que controla el ritmo de actividad locomotora, pero que tiene influencia sobre la velocidad angular del oscilador que controla el ritmo de actividad; ya que después de la pinealectomía, el periodo del ritmo se acorta o se alarga entre los distintos animales revisados. Sin embargo, la tendencia de acortamiento o alargamiento no es siempre la misma, y sin tener al parecer, relación con el valor del periodo previo a la lesión. Estos resultados son semejantes a los observados por otros investigadores (Underwood, 1977, 1981; Tosini y Menaker, 1998; Foà, 1991; Bartell *et al.*, 2004). Lo mismo se observa en las lagartijas *S. occidentalis* y *P. sicula* (Underwood, 1983, 2001). Al comparar estos resultados con los obtenidos en otras especies, existen diferencias importantes ya que la pinealectomía abole el ritmo de actividad locomotora en la lagartija *A. carolinensis* (Underwood, 1983 y 1989), en las aves *P. domesticus* (Gastón y Menaker, 1968), y *P. oryzovoria* (Gastón y Menaker, 1968; Ebihara y Kawamura, 1981) y en la lamprea *Lamprea japonica* (Morita *et al.*, 1992), mientras que en otras especies no tiene un efecto notable (Janik y Menaker, 1990; Tossini y Menaker, 1998). Sin embargo, en algunos organismos del género *Sceloporus*, se ha observado arritmia después de la pinealectomía (Underwood, 2001).

La participación de la glándula pineal en la organización del sistema circadiano en los reptiles iguánidos, entre los que se incluye la familia Phrynosomatidae (Scelopóridos), parece ser periférica a la de un oscilador central posiblemente localizado en el hipotálamo, región homóloga al NSQ de vertebrados. Se ha observado que en la iguana del desierto *D. dorsalis*, la lesión del NSQ abole el ritmo de actividad locomotora (Janik y Menaker, 1990) como sucede en otros lacertilios tales como la lagartija del viejo mundo *P. sicula* (Minutini *et al.*, 1995).

En el presente trabajo, la pinealectomía no abole el ritmo de actividad locomotora, por lo que es recomendable practicar otro tipo de lesiones tales como la enucleación ocular o lesiones directamente a la región homóloga al NSQ para saber si alguna de estas estructuras es el (o son los) marcapasos que controla(n) el ritmo de actividad locomotora.

14.4. Efecto de la pinealectomía en distintas épocas del año

Si bien, originalmente no se tenía contemplado en este protocolo estudiar diferencias estacionales, estos resultados sugieren que la glándula pineal puede tener una participación con intensidad variable a lo largo del año sobre la organización del sistema circadiano en la lagartija *S. torquatus*, pues tanto en condiciones constantes de luz roja tenue como en ciclos de luz-obscuridad, existe una tendencia general a tener mayor influencia sobre tres de los cuatro parámetros estudiados durante el verano. Un efecto semejante ha sido observado en la lagartija del viejo mundo *P. sicula* (Innocenti *et al.*, 1994, 1996).

Estos resultados pueden estar relacionados con diferentes estados metabólicos y hormonales de la lagartija, sin relación alguna con la glándula pineal, o bien, con el estado reproductivo de esta especie. Además, cabe aclarar que en este trabajo no se controló la edad ni el número de hembras y machos que, de acuerdo con la época del año, se encontraban en una u otra etapa de su estado reproductivo, y esto pudo influir en los resultados.

La forma en que puede estar involucrada la glándula pineal sobre la regulación del ritmo de actividad locomotora es probablemente mediante la respuesta fotoperiódica que

podiera tener esta especie. Actualmente se carece de información sobre una posible relación entre la inducción fotoperiódica de la reproducción y la participación mayor o menor de la glándula pineal sobre la regulación del sistema circadiano. Por lo que queda abierta la posibilidad de poner a prueba la hipótesis de que existe una correlación entre estas dos variables. Es probable también que la diversidad de resultados observados por Underwood durante varios de sus estudios, donde después de la pinealectomía algunos animales son arrítmicos y otros no, se deba a la época del año en que realizó los experimentos.

14.5. Interpretación ecológica

La influencia mayor o menor de la glándula pineal sobre la organización circadiana podría estar determinada por las variaciones estacionales en el fotoperiodo y la temperatura. Estudios realizados por Hyde y Underwood (1993), sugieren que, es la relación de fase del ritmo de melatonina con el resto del sistema circadiano, lo que pudiera tener una influencia sobre la relación endócrina de la reproducción estacional. Si bien los resultados de este trabajo son insuficientes para una interpretación más completa, es importante mencionar que la participación de los distintos osciladores presentes en el sistema circadiano de los reptiles lacertilios e iguánidos, parece tener una plasticidad tal, que la jerarquía entre los distintos osciladores sea variable dependiendo de la época del año y de la edad del animal (Tosini *et al.*, 2001).

15. CONCLUSIONES

1. En la lagartija *S. torquatus*, la glándula pineal no es el marcapasos que controla el ritmo de actividad locomotora.
2. En la especie *S. torquatus*, la glándula pineal sólo tiene influencia en la velocidad angular del oscilador que controla el ritmo de actividad locomotora, ya que al parecer tiene una participación periférica en la organización del sistema circadiano.
3. La variabilidad en el valor del periodo del ritmo en libre curso indica que en esta especie dicho valor no es constante.
4. La respuesta de esta especie a la condición de luz constante usada en este trabajo, fue la arritmia.
5. La falsa pinealectomía (parietalectomía) no tiene influencia trascendental en la expresión de la actividad locomotora de la lagartija *S. torquatus*.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ablación	Extirpación quirúrgica de un órgano, glándula o una parte del cuerpo.
Amplitud	Diferencia entre el máximo (o mínimo) y el valor medio en una oscilación cosenoidal.
Cambio de fase	Desfasamiento único de una oscilación a lo largo del eje de tiempo, puede ocurrir instantáneamente o después de algunos ciclos transitorios.
Control de fase	Control del periodo y de la relación de fase de un ritmo por un Zeitgeber.
Curva de respuesta de fase	Forma gráfica que indica la cantidad y la dirección de un cambio de fase inducido por un estímulo, el cual depende de la fase a la cual el estímulo es aplicado.
Elemento pasivo	Sistema efector que actúa como componente dentro de un sistema biológico, que no es capaz de generar oscilaciones auto-sostenidas y es rítmico, sólo si es forzado por una oscilación proveniente de otro elemento del sistema circadiano.
Fase	Estado instantáneo de una oscilación dentro de un periodo.
Fotoperiodo	Duración de la luz durante un ciclo L.O.
Fotoperiodo esqueleto	Cuando un fotoperiodo completo de sincronización se sustituye por dos pulsos discretos de luz presentados en la fase de transición de iluminación.
Fotorreceptor	Neurona especializada capaz de detectar la presencia de radiaciones electromagnéticas en la banda de luz visible. Si se encuentra localizado en la retina es llamado F. retinal, si se encuentra fuera: F. extrarretinal.
Frecuencia	Recíproco de un periodo.
Marcapasos circadiano	Entidad funcional capaz de auto-sostener oscilaciones las cuales sincronizan con otros ritmos.
Mediador	Función neural o endócrina que, a través de osciladores, puede transmitir información de periodo y fase así como sincronizar ritmos en un tejido blanco.
Oscilación espontánea o libre curso	Estado de un ritmo circadiano en condiciones constantes, esto es, en ausencia de agentes sincronizadores (Zeitgebers).
Oscilador	Centro generador de un ritmo determinado
Oscilador maestro o primario	Estructura marcapasos
Oscilador secundario o esclavo	Centro generador de un ritmo determinado que está bajo el control de un oscilador primario. Sus oscilaciones generalmente tienen menos estabilidad y persistencia que las de un marcapasos, no está sincronizado directamente por un zeitgeber, y no necesariamente sincroniza a otro oscilador.
Parietalectomía	Extirpación del ojo parietal.
Periodo	Intervalo de tiempo entre las repeticiones de una fase definida del ritmo.
Ritmo circadiano	Ritmo biológico auto-sostenido que en libre curso (condiciones constantes) presenta un periodo aproximado de 24 h, y que en el ambiente natural de los organismos es normalmente sincronizado también, a un periodo de 24 horas.
Ritmo en libre curso	Ritmo endógeno con periodo aproximado a 24 h que se expresa bajo condiciones constantes de oscuridad.
Ritmo endógeno	Ritmo auto-sostenido generado dentro del organismo.
Sincronización	Sincronización de un ritmo auto-sostenido por una fuerza de oscilación (Zeitgeber). Durante la sincronización las frecuencias de dos osciladores son las mismas o múltiplos integrales de cada uno.
Zeitgeber	Oscilación forzada ambiental la cual sincroniza un ritmo biológico auto-sostenido.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, R. (1993). Teorías básicas de los ritmos biológicos. *Psiquis*. 6 (2): 121-132.
- Aguilar, R.; Salazar-Juárez, A.; Rojas, D.; Escobar, C. y Cintra, L. (1997). Organization of circadian Rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats. *Am J Physiol*. 273: R 1321 – R 1331.
- Álvarez, T. y Lachica, F. (1991). Zoogeografía de los vertebrados de México. SITESA. Instituto Politécnico Nacional. México. 65 pp.
- Aschoff, J. Free-running and entrained circadian rhythms, en: Aschoff, J. ed., *Biological Rhythms*, Vol. 4, Plenum Press, Handbook of Behavioral Newobiology, New York, 1981, p. 563.
- Babb, S. K.; Dávila P. P.; Carrillo, B.; Monterrubio, J.; Franco, H. y González, R. (1989). El recurso vertebrados terrestres en San Mateo Texcalyacac. Estado de México. pág. 365-367. en: *Memorias VII Simposio sobre Fauna Silvestre*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, D. F.
- Barrett, R. K. y Takahashi, J.S. (1997). Lability of circadian pacemaker amplitude in chick pineal cells: A temperature-dependent process. *J. Biol. Rhythms*. 12: 309-318.
- Bartell, P. A.; Miranda-Anaya, M. y Menaker, M. (2004). Period and phase control in a multi-oscillatory circadian system (*Iguana iguana*). *J. Biol. Rhythms*. En prensa.
- Brooks, D. S. y Cassone, V. M. (1992). Daily and circadian regulation of 2-[125I] iodometatonin binding in the chick brain. *Endocrin*. 131: 1297-1304.
- Cahill, G. M. y Besharse, J. C. (1991). Resetting the circadian clock in *Xenopus* eyecups: Regulation of retinal melatonin rhythms by light and D₂ dopamine receptors. *J Neuroscience*. 11:2959-2971.
- Cassone, V. M. (1988). Circadian variation of [14C]2-deoxyglucose uptake within the suprachiasmatic nucleus of the house sparrow, *Passer domesticus*. *Brain Res*. 459: 178-82.
- Cassone, V. M., y Menaker, M. (1983). Sympathetic regulation of chicken pineal rhythms. *Brain Res*. 272: 311-317.
- Cassone, V. M. y Menaker, M. (1984). Is the avian circadian system a neuroendocrine loop? *J. Exp. Zool*. 232: 539-549.
- Cassone, V. M. y Moore, R. Y. (1987). Retinohypothalamic projection and suprachiasmatic nucleus of the house sparrow, *Passer domesticus*. *J. Comp. Neurol*. 266: 171-182.
- Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative biology. Vol. XXV. *Biological Clocks*, 1960.
- CONABIO. 1998. Datos Generales del MapaCita de la información "Uso de suelo y vegetación modificado por CONABIO". Escala 1: 1 000 000. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, México.
- Chabot, C. C. y Menaker, M. (1992). Circadian feeding and locomotor rhythms in pigeons and house sparrows. *J. Biol. Rhythms*. 7: 287-299.

-
- Crosby, E. C. y Showers, M. J. L. (1969). Comparative anatomy of the preoptic and hypothalamic areas. In: Haymaker W, Anderson E, Nauta WJH. eds. *The Hypothalamus*. Springfield, IL: Charles C. Thomas Pub. pp. 61-135.
- Dunlap, J. C. (1999). Molecular Bases for Circadian Clocks. *Cell*. (96): 271-290
- Ebihara, S. y Kawamura, H. (1981). The role of the pineal organ and the suprachiasmatic nuclei in the control of circadian locomotor rhythms in the Java sparrow, *Padda orizivora*. *J. Comp. Physiol.* 141: 207-214.
- Ebihara, S., Uchiyama, K., y Oshima, I. (1984). Circadian organization in the pigeon, *Columbia livia*: the role of the pineal organ and the eye. *J. Comp. Physiol.* 154: 59-69.
- Feria, M.; Nieto-Montes, A. y Salgado, I. H. (2001). Diet and reproductive biology of the viviparous lizard *Sceloporus torquatus torquatus* (Squamata: Phrynosomatidae). *Journal of Herpetology*. 1 (35): 104-112.
- Foà, A. (1991). The role of the pineal and the retinae in the expresión of circadian locomotor rhythmicity in the ruin lizard *Podarcis sicula*. *J. Comp. Physiol. A*. 169: 201-207.
- Foà, A. y Menaker, M. (1988). Contribution of pineal and retinae to the circadian rhythms of circulating melatonin in pigeons. *J. Comp. Physiol. A*. 164: 25-30.
- Foster, R. G.; Grace, M. S.; Provencio, I.; DeGrip, W. J. y García-Fernandez, J. M. (1994). Identification of vertebrate deep brain photoreceptors. *Neurosci Biobehav Rev*, 18, 541-546.
- García, E. (1974). Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 246 pp.
- Gaston, S. y Menaker, M. (1968). Pineal function: the biological clock in the sparrow? *Science*. 160: 1125-1127.
- Golombek, D. (1993). Ritmos circadianos en humanos: cronofarmacología. *Psiquis*. 6 (2): 133-138.
- Green, D. J. y Guillelte, R. (1982). Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat supra chiasmatic brain slice. *Brain Research*. 245: 198-200.
- Gruart, A.; Delgado, J. M.; Escobar, C. y Aguilar, R. Los relojes que gobiernan la vida. *La Ciencia para todos*. Núm. 188. F. C. E. México, D. F. 2002.
- Guillelte, L. J. y Méndez-de la Cruz, F. R. (1993). The reproductive cycle of the viviparus Mexican lizard *Sceloporus torquatus*. *J. Herpetol.* 2 (27): 168-174.
- Gwinner, E. y Benzinger, I. (1978). Synchronization of a circadian rhythm in pinealectomized European starlings by daily injections of melatonin, *Stumus vulgaris*. *J. Comp. Physiol.* 127: 209-213.
- Harada, Y.; Goto, M.; Ebihara, S.; Fujisawa, H.; Kegasawa, K. y Oishi, T. (1998). Circadian locomotor activity rhythms in the African clawed frog, *Xenopus laevis*: The role of the eyes and the hypothalamus. *Biol. Rhythm Res*. 29: 30-48.
- INEGI. (1987). Síntesis Geofigura. Nomenclator y anexo cartográfico del Estado de México. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. México. 223 pp.
-

-
- Innocenti, A.; Bertolucci, C.; Minutini, L. y Foa, A. (1996). Seasonal variations of pineal involvement in the circadian organization of the ruin lizard *Podarcis sicula*. J. Exp. Biol. 199: 1189-1194.
- Janik, D. S. y Menaker, M. (1990). Circadian locomotor rhythms in the desert iguana. 1. The role of the eyes and the pineal. J Comp Physiol A. 166: 803-810.
- Janik, D. S.; Pickard, G. E. y Menaker, M. (1990). Circadian locomotor rhythms in the desert iguana. 2. Effects of electrolytic lesions to the hypothalamus. J Comp Physiol A. 166: 811-816.
- Janik, D.; Cassone, V. M.; Pickard, G. E. y Menaker, M. (1994). Retinohypothalamic projections and immunocytochemical analysis of the suprachiasmatic region of the desert iguana *Dipsosaurus dorsalis*. Cell Tiss. Res. 275: 399-406.
- Lehman, M. N.; Silver, R.; Gladstone, W. R.; Kahn, R. M.; Gibson, M. y Bittman, E. L. (1987). Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. J. Neurosci. 7: 1626-1638.
- López-Islas, M. U. (1994). Aves insectívoras Paseriformes de bosque mixto. San Mateo Texcalyacác, Edo. de México. Tesis de grado, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN.
- López y Ramos, E. (1979). Geología de México. Tomo III. De. Escolar. México, D. F. 446 pp.
- Malpoux, B.; Thiery, J. C. y Chemineau, P. (1999). Melatonin and the seasonal control of reproduction. Reproduction, Nutrition, Development. 39: 355-366.
- McArthur, A. J.; Gillette, M. U. y Prosser, R. A. (1991). Melatonin directly resets the rat suprachiasmatic circadian clock in vitro. Brain Res. 565: 158-161.
- Meijer, J. H. (2001). Photic entrainment in mammals en: Takahashi, J. S., Turek, F. W., and Moore, R. Y. Eds. Circadian Clocks, Vol. 12 of Handbook of Behavioral Neurobiology, Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2001, 111-135.
- Meissl, H. y Yanez, J. (1994). Pineal photosensitivity. A comparison with retinal photoreception. Acta Neurobiol. Exp. 54 Suppl: 19-29.
- Menaker, M. (1997). Commentary: Does melatonin do and how does it do it? J Biol Rhyt. No. 6 (12): 532-534.
- Menaker, M.; Moreira, L. F. y Tosini, G. (1997). Evolution of circadian organization in vertebrates. Braz J Med Biol Res. 30: 305-313.
- Minutini, L.; Innocenti, A.; Bertolucci, C. y Foà, A. (1995). Circadian organization in the ruin lizard *Podarcis sicula*: the role of the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus. J. Comp. Physiol. A. 176: 281-288.
- Monterrubio, M. J. A. (1991). Contribución al conocimiento de los mamíferos del Estado de México y el Municipio de Texcalyacác, Estado de México. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F. 90 pp.
- Moore-Ede, M. C. *et al.* The clocks that time us. Harvard University Press. U. S. A. 1982.
-

- Moore, Y. R. y Rehana, K. L. Suprachiasmatic Nucleus en: Takahashi, J. S., Turek F. W., y Moore, R. Y. Eds., *Circadian Clocks*, Vol. 12 of *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2001, 141-159.
- Morita, Y.; Tabata, M.; Uchida, K. y Samejima, M. (1992). Pineal-dependent locomotor activity of lamprey, *Lampetra japonica*, measured in relation to LD cycle and circadian rhythmicity. *J. Comp. Physiol.* 171: 555-562.
- Murakami, N.; Nakamura, H.; Nishi, R.; Marumoto, N. y Nasu, T. (1994). Comparison of circadian oscillation of melatonin release in pineal cells of house sparrow, pigeon and Japanese quail, using cell perfusion systems. *Brain Res.* 651: 209-214.
- Pierce, M. E.; Sheshberadaran, H.; Zhang, Z.; Fox, L. E.; Applebury, M. L. y Takahashi, J. S. (1993). Circadian regulation of iodopsin gene expression in embryonic photoreceptors in retinal cell culture. *Neuron.* 10: 579-584.
- Pittendrigh, C. S. *Circadian Systems: Entrainment* en: Aschoff, J. Ed. *Biological Rhythms*, Vol. 4 of *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Plenum press. New York. 1981. 95-123.
- Ralph, C. L.; Firth, B. T.; Gern, W. A. y Owens, D. W. (1979). The pineal complex and thermoregulation. *Biol. Rev.* 54: 41-72.
- Ralph, M. R.; Foster, R. G.; Davis, F. C. y Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science.* 247: 975-978.
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México*. Ed. Limusa, México. 432 pp.
- Simpson, S. M. y Follet, B. K. (1981). Pineal and hypothalamic pacemakers: their role in regulating circadian rhythmicity in Japanese quail. *J. Comp. Physiol.* 144: 381-389.
- Smith, H. M. y Taylor, E. H. (1950). An annotated checklist and key to the reptiles of Mexico exclusive of the snakes. *Bull. U. S. Natn. Mus.* 199: 1-253.
- Sokolove, P. G. y Bushell, W. N. (1978). The Chisquare periodogram: its utility for analysis of circadian rhythm. *J. Theor. Biol.* 72: 131-160.
- Solessio, E. y Engbretson, G. A. (1993). Antagonistic chromatic mechanisms in photoreceptors of the parietal eye of lizards. *Nature.* 364: 442-445.
- Takahashi, J. S. y Menaker, M. (1982). Role of the suprachiasmatic nuclei in the circadian system of the house sparrow, *Passer domesticus*. *J. Neurosci.* 2: 815-828.
- Tosini, G. y Menaker, M. (1996) Cultured rhythms in mammalian retina. *Science.* 272: 419-421.
- Tosini, G. y Menaker, M. (1998). Multioscillatory circadian organization in a vertebrate, *Iguana iguana*. *J. Neurosci.* 18 (3): 1105-1114.
- Tosini, G. *et al.* (2001). The circadian system of reptiles: a multioscillatory and multiphotoreceptive system. *Physiology & Behavior.* 72: 461-471.
- Underwood, H. (1977). Circadian organization in lizards: The role of the pineal organ. *Science.* 195: 587-589.
- Underwood, H. (1981). Circadian organization in the lizard *Sceloporus occidentalis*: The effects of pinealectomy, blinding, and melatonin. *J. Comp. Physiol. A.* 141: 537-547.

-
- Underwood, H. (1983). Circadian organization in lizards: The role of the Pineal Organ. *Science*. (195): 587-589.
- Underwood, H. (1989). The pineal and melatonin: regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia*, 45: 914-922.
- Underwood, H. (1994). The circadian rhythm of the thermoregulation in Japanese quail I. Role of the eyes and pineal. *J Comp Physiol A*. 175: 639-653.
- Underwood, H. y Siopes, T. (1984). Circadian organization in Japanese quail. *J. Exp. Zool.* 232: 557-566.
- Underwood, H. Circadian Organization in Nonmammalian Vertebrates en: Takahashi, J. S., Turek, F. W., y Moore, R. Y. Eds., *Circadian Clocks*, Vol. 12 of Handbook of Behavioral Neurobiology, Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2001, 111-135.
- Uribe-Alcocer, M. C.; Méndez, M. E.; Gonzalez, J. E. y Guillette, L. J. (1995). Seasonal variation in ovarian histology of the viviparous lizard *Sceloporus torquatus torquatus*. *J Morphol.* 226: 103-119.
- Uribe-Peña, Z.; Ramírez, A. y Kasas, G. (1999). Anfibios y Reptiles de las serranías del Distrito Federal, México. 32. Instituto de Biología.
- Vivien-Roels, B. y Pévet, P. (1993). Melatonin: Presence and formation in invertebrates. *Experientia*, 49, 642-647.
- Weekley, L. B. (1991). Melatonin-induced relaxation of rat aorta: interaction with adrenergic agonists. *J. Pineal Res.* 11: 28-34.
- West, R. C. (1971). The natural regions of Middle American. En R. Wauchope (ed.), *Handbook of Middle American Indians*, Vol. 1 University of Texas Press. Austin, Texas: 363- 383.
- Yamazaki, S.; Goto, M. y Menaker, M. (1999). No evidence for extraocular photoreceptors in the circadian system of the Syrian hamster. *J. Biol. Rhythms.* 14: 197-201.
- Yamazaki, S.; Numano, R.; Abe, M.; Hida, A.; Takahashi, R.; Ueda, M.; Block, G. D.; Sakaki, Y.; Menaker, M. y Tei, H. (2000). Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science*. 288: 682-685.
- Zimmerman, N. y Menaker, M. (1979). The pineal gland: A pacemaker within the circadian system of the house sparrow. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 76: 999-1003.