



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**COMUNICACIÓN MADRE-CRÍAS DURANTE LA EXPRESIÓN
DE LA CONDUCTA MATERNAL EN LA RATA DESNUTRIDA
DURANTE EL PERÍODO NEONATAL: EMISIÓN DE
VOCALIZACIONES**

T E S I S

**Q U E P R E S E N T A
KARINA MÁRQUEZ IBARRA
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS
(NEUROBIOLOGÍA)**

DIRECTOR DE TESIS: DR. MANUEL SALAS ALVARADO

Campus Juriquilla, Qro. 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer la instrucción recibida por parte de todos mis profesores, en especial al Dr. Manuel Salas y a Carmelita Torrero, quienes dirigieron con paciencia y dedicación el desarrollo de esta tesis. A la Dra. Gina Quirarte, la Dra. Teresa Morales y muy especialmente a la Dra. Angélica Terrazas quienes con sus valiosos comentarios y sugerencias hicieron posible la realización de este trabajo. A Norma Serafín y Mirelta Regalado, quienes me ayudaron cuando necesité su apoyo.

Agradezco al Dr. León Cintra, la Dra. Gabriela Morali, y al Dr. Angel Melo por su contribución en la revisión de esta tesis.

Agradezco a la UNAM, al Instituto de Neurobiología, y a las unidades de enseñanza, biblioteca y Bioterio; al programa de becas CONACYT 175900 y DGEP/UNAM, quienes me permitieron continuar con mi formación académica. Tesis realizada con el apoyo parcial de DGAPA/UNAM, IN 210903 y 215804.

Gracias a mi familia, en especial a mis padres que me han apoyado moral y económicamente en toda mi vida académica. A Mauricio, que ha estado siempre a mi lado. A todos mis amigos y compañeros (que están y los que no están) con los que compartí muchas cosas.

I. RESUMEN

II. ABSTRACT

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Comunicación madre-cría durante la conducta maternal en roedores	8
2.2 Características del sonido	12
2.3 Vocalizaciones en los roedores	16
2.4 Malnutrición y estimulación sensorial en roedores	21
2.4.1 Métodos experimentales para restringir la ingesta de alimento durante el período de amamantamiento	21
2.4.2 Alteraciones asociadas a la malnutrición	22
2.4.3 Estimulación sensorial	23
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
4. HIPÓTESIS	26
5. OBJETIVOS	26
5.1 Objetivo general	26
5.2 Objetivos específicos	26
6. MATERIAL Y MÉTODOS	27
6.1 Sujetos experimentales	27
6.2 Maniobras experimentales	30
6.2.1 Desnutrición	30
6.2.2 Estimulación sensorial	33
6.3 Registro y caracterización de las vocalizaciones emitidas durante la conducta maternal	36
6.3.1 Registro de la conducta maternal	36
6.3.2 Caracterización de las vocalizaciones	38
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40

8. RESULTADOS	41
8.1 Peso corporal	41
8.2 Conducta materna	44
8.2.1 Amamantamiento	46
8.2.2 Autolamido materno	49
8.2.3 Lamido materno	51
8.2.4 Vocalizaciones audibles	55
8.2.5 Vocalizaciones ultrasónicas	57
8.2.6 Acarreo	59
9. DISCUSIÓN	65
10. CONCLUSIONES	73
11. PERSPECTIVAS	74
12. REFERENCIAS	75

I. RESUMEN

Las crías recién nacidas separadas de la madre, durante el curso del cuidado maternal o cuando son transportadas por ella hacia el nido, emiten vocalizaciones audibles y ultrasónicas, que les permiten demandar atención materna. En este estudio, se analizan varios componentes de la conducta materna (madres F0) y las vocalizaciones audibles y ultrasónicas emitidas por los recién nacidos (F1) de madres (Wistar) que fueron bien alimentadas (C), desnutridas (D), controles estimuladas (CE) y desnutridas estimuladas (DE) durante el periodo neonatal. Las vocalizaciones fueron medidas durante la expresión de la conducta materna de las nodrizas F0 de los diferentes grupos experimentales (10 min). La desnutrición neonatal de las madres F0 se realizó por separación parcial diaria (12 h) de la mitad de la camada (n=4) en una incubadora (28° C) del día 1 al 24 de edad. La estimulación sensorial temprana se realizó mediante masaje corporal suave (días 1-14 de edad) durante 10 minutos y mediante la exposición (30 min) a una caja enriquecida con estímulos sensoriales (días 15 al 30 de edad). Los resultados mostraron baja consistente en el peso corporal de las madres F0 de los grupos D y DE cuando fueron desnutridas en la etapa neonatal, y de su progenie F1 a lo largo del estudio (días 1 al 20 de edad). Asimismo, las madres del grupo D redujeron la frecuencia y duración del amamantamiento y el lamido dirigido hacia las crías, incrementaron sus latencias para el acarreo y su autoaseo, comparadas con sus controles. Las madres del grupo DE mostraron parcialmente atenuadas las alteraciones en su conducta materna comparadas con el grupo D. La medición de la frecuencia de emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas por las crías F1 durante las pruebas de conducta materna, indicó que las crías atendidas por las madres del grupo D, emiten más vocalizaciones de ambos tipos, ocurriendo el efecto opuesto en las crías atendidas por las madres del grupo DE. Los hallazgos sugieren que la concurrencia de desnutrición neonatal con estimulación sensorial temprana, atenuó tanto las alteraciones de los componentes de la conducta materna de las madres F0, como la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas de las crías F1. Los hallazgos indican que la restricción neonatal de alimento de las hembras cuya conducta materna está alterada en la adultez, repercute negativamente en la comunicación con las crías a través de la emisión de vocalizaciones. Asimismo, que la estimulación sensorial temprana al atenuar los efectos de la desnutrición neonatal en la madre reduce la emisión de vocalizaciones en las crías recién nacidas asistidas por estas madres.

II. ABSTRACT

When pups are separated from the mother, during the course of the maternal response or when they are retrieved by the mother consistently emit both audible or ultrasound vocalizations to demand maternal care. In this study several components of the maternal response of (F0) dams and the vocalizations emitted by their (F1) preweaning pups were analyzed during the maternal responsiveness (10 min) of control (C), undernourished (U), control stimulated (CS) and undernourished stimulated (US) Wistar rats. Neonatal undernutrition of F0 dams was given by separating pups (12 h) in an incubator (28° C) from days 1 to 24 of age. Early sensory stimulation was done by the daily handling (10 min) from 1-14 days of age and thereafter by the daily exposure (30 min) to a sensory enriched environment from days 15-30 of age. Data indicated consistent body weight reductions of F0 dams and F1 newborns throughout the experimental period. Maternal behavioral responses of U dams were significantly reduced with minor effects on US mothers.

The frequency of audible and ultrasound vocalizations emitted by the F1 pups of U dams during the maternal behavioral test was significantly increased while in the pups of US mothers these frequencies were attenuated. The experimental findings indicated that the concurrence of early sensory stimulation and neonatal undernutrition attenuates both the alterations of the maternal behavioral components in F0 dams and those of the emission of vocalizations in the F1 newborns. The findings indicate that the deficient maternal behavioral performance associated to neonatal undernutrition, interfere with the brain growing of F1 pups by altering mother-litter communication via the vocalizations. Moreover, that early sensory stimulation ameliorates the brain noxious effects of undernutrition ameliorating the emission of pup's vocalizations.

1. INTRODUCCIÓN

El periodo posparto constituye una etapa de gran riqueza en las interacciones entre la madre y sus crías, ya que se establece una comunicación precisa y delicada que hasta la fecha tiene varios aspectos poco conocidos. Durante esta etapa el recién nacido por la propia inmadurez en su desarrollo, muestra marcadas limitaciones para comunicarse con su madre, sin embargo, emite una variedad de señales sensoriales de distinta naturaleza que son reconocidas por ésta para auxiliarlo en sus necesidades. Asimismo, la madre a través del lamido anogenital de sus crías obtiene de las mismas varios materiales (orina y excremento) los cuales ingiere para restituir parcialmente el desgaste que implica la secreción láctea, y el consumo de energía necesarios para hacer eficiente su conducta maternal (Gubernick y Alberts, 1983).

Dentro de las señales mejor conocidas producidas por las crías se encuentra la emisión de vocalizaciones (audibles o inaudibles para el oído humano), que se sabe, tienen un papel muy importante en el establecimiento de las interacciones madre crías. Desde mediados del siglo pasado se reconoció que la rata produce señales ultrasónicas en respuesta a situaciones hostiles o de dolor. Estas vocalizaciones son muy frecuentes en las crías expuestas al frío y no sufren cambios estadísticamente significativos cuando se exponen al calor (Allin y Banks, 1972). Por ejemplo, se ha encontrado que la separación de las crías del nido durante 3 minutos (se colocan en una caja pequeña, y posteriormente se regresan al nido), provoca una gran emisión de vocalizaciones. Se ha propuesto que esta emisión incrementada de señales tiene la función de atraer la atención de la madre, para acarrear a las crías hacia el nido, para suministrarles estímulos táctiles a través del lamido corporal y genital, y así promover su crecimiento (Bell y col., 1971). Sin embargo, otros estudios han reportado que manipulando a las crías recién nacidas al colocarlas individualmente en cajas de plástico pequeñas

por 3-4 minutos durante 13 días, la frecuencia de vocalizaciones disminuye a partir del día 5 de edad en comparación con sus testigos (Hunt y col., 1976).

En los recién nacidos la emisión de vocalizaciones implica la codificación de las señales ultrasónicas emitidas hacia el ambiente cercano, que la madre debe decodificar para reconocer las causas que provocaron las vocalizaciones de sus crías y así atender a las demandas de las mismas (Bell, 1974). Noirot (1972) propuso que las vocalizaciones que emiten las crías de ratón recién nacidas, en respuesta al frío y a los estímulos táctiles, posiblemente provocan 2 tipos de respuesta materna, una demandando el acarreo de las crías hacia el nido y otra para entrar en contacto físico y prevenir el descenso térmico por la exposición al medio ambiente externo. Otros estudios han postulado que el dolor generado por el recorte quirúrgico de parte de una pinna o de una falange de un dedo en ratones (*Mus musculus*) recién nacidos provoca la emisión de un gran número de vocalizaciones (Bell y col., 1972). Así mismo, el dolor generado por la distensión vesical y rectal en las crías, induce la emisión de vocalizaciones y un aumento en la secreción de péptidos de cadena corta (propionato de dodecil) en la región anogenital, que le permite a la madre orientarse hacia las crías y lamer vigorosamente esa región para provocar el reflejo urogenital y la liberación de sus excretas (Brouette-Lahlou y col., 1992).

Debido a la gran inmadurez del sistema nervioso central (SNC) del recién nacido para codificar señales de ultrasonido, se ha postulado que la emisión de vocalizaciones ultrasónicas en las crías ante distintas señales estresantes, reflejaría más que un mensaje específico, un estado de “alerta” del neonato que decodificado por la madre, también generaría en ésta un estado de “alerta” para actuar en consecuencia (Bell, 1974). Lo más relevante de esta interpretación, es que las vocalizaciones del recién nacido provocadas por distintos estímulos, resultan en la ejecución de distintos patrones de conducta en la madre dependiendo del contexto en que se producen. Esto es, que las respuestas maternas específicas resultado de detectar las vocalizaciones del neonato

dependen del grado de alerta que generan en ésta, de su estado funcional (lactancia, estro, niveles de hormonas, etc.), de estímulos sensoriales (tacto, olores, gusto y dolor) y de las experiencias previas asociadas con el estímulo complejo más que con señales de información codificada específica generadas por los recién nacidos.

Otro factor que probablemente influye en la producción de ultrasonidos es el aporte de nutrimentos, así, las crías restringidas de alimento emiten menor número de vocalizaciones comparadas con las bien nutridas. Posiblemente, los factores nutrimentales y especialmente la carencia de alimento de las crías durante el período postnatal, puede influir en la forma en que las madres cuidan a sus crías, y por tanto también puede influir en la emisión de las vocalizaciones de las mismas (Salas y col., 1984). Sin embargo, poco se sabe acerca de las alteraciones en la emisión de vocalizaciones de las crías desnutridas tempranamente, tanto cuando la madre es separada de éstas como durante la respuesta maternal incluyendo el acarreo de las crías hacia el nido. Otra fuente importante de la emisión de vocalizaciones por parte de las crías, proviene de la estimulación generada por estímulos gustativos, particularmente de los componentes de la leche materna. Así, es conocido que las crías recién nacidas son capaces de reconocer sustancias energéticas como el almidón y grasas, endulzadas con sacarosa y además de establecer durante un periodo corto aprendizaje de tipo asociativo (Galef y Sherry, 1973). En este contexto, la presencia de la madre tiene una influencia notable ya que a través de la emisión de vocalizaciones, la cría puede manifestar su aversión o preferencia por la degustación de los componentes lácteos y así demandar la atención materna. Por otra parte, se ha establecido que la estimulación sensorial temprana además de promover el desarrollo neuronal y su función a través de diferentes mecanismos, es capaz de atenuar la respuesta al estrés, tanto a corto como a largo plazo (Francis y Meaney, 1999). De esta manera, sería factible que tal estimulación sensorial temprana; a través del lamido materno, mejoraría la atención de las madres que fueron desnutridas durante la etapa neonatal hacia sus crías recién

nacidas, modificando así la emisión de vocalizaciones de las mismas (Francis y col., 1999).

Tomando en cuenta estos hallazgos, en este estudio se analiza la emisión de vocalizaciones ultrasónicas y audibles de las crías (F1) alimentadas por madres (F0) con distintos tratamientos experimentales durante la etapa postnatal: desnutridas y alimentadas normalmente, así como, estimuladas sensorialmente y desnutridas y estimuladas sensorialmente. La emisión de vocalizaciones de las crías de cada uno de estos grupos experimentales probablemente será distinta.

2. ANTECEDENTES

Los primeros estudios de conducta maternal en roedores se realizaron en ratas (*Rattus norvegicus*) y en ratones (*Mus musculus*), en los cuales, se describieron los patrones de conducta maternal y se determinaron los factores que los regulan (Leblond y Nelson, 1937). Posteriormente, los estudios de Rosenblatt y sus asociados en los últimos 40 años han descrito con mayor precisión los mecanismos neuroendocrinos que estimulan antes del parto la conducta maternal, la participación de los estímulos sensoriales que proveen las crías durante el periodo neonatal para el establecimiento y el mantenimiento de la conducta maternal, y por ende, la lactancia y los mecanismos de su declinación durante el período predestete (Rosenblatt y Lehrman, 1963; Mayer y col., 1979; Elwood, 1983; Corodimas y col., 1993).

La regulación de la conducta maternal en la rata se puede dividir principalmente en tres fases:

La primera fase incluye el inicio de la conducta maternal durante el embarazo y los primeros contactos con las crías recién nacidas. Esta fase es regulada primordialmente por medio de hormonas y en particular por el pico de estrógenos y prolactina al término del embarazo, eventos generados por la declinación previa de progesterona plasmática. En el ratón y el hámster la “construcción del nido” surge al final del embarazo, cuando altos niveles de progesterona y prolactina con bajos niveles de estrógeno estimulan las estructuras neuronales que dan inicio a la “construcción de nido” (Lisk y col., 1969). Otro evento conductual que aparece al final de la gestación es la agresión maternal hacia los intrusos, la cual se incrementa y se mantiene alta durante los primeros 10-14 días de la lactancia (Elwood, 1983). Este tipo de conducta es básica para la supervivencia de las crías, ya que protege a los neonatos de un posible intruso o bien de un depredador. En el ratón, la agresión maternal surge brevemente después del parto y es

dependiente primordialmente de la estimulación de las crías y no de la secreción hormonal durante el embarazo. Respecto a la rata se reporta una declinación en el canibalismo alrededor de 2 a 3 días después del parto, observándose variaciones entre diferentes cepas y el grado de canibalismo (Peters, 1980).

La segunda fase en la regulación de la conducta maternal ocurre después del parto, y se mantiene hasta el fin de la lactancia. En la rata esta fase es dependiente casi por completo de la estimulación sensorial de las crías. En ausencia de esta estimulación, la respuesta maternal declina y desaparece, pero puede ser restituida por la exposición repetida a crías recién nacidas.

Existe una tercera fase, llamada fase de transición, que incluye el período terminal del inicio de la conducta maternal y el comienzo del periodo post-parto. En la rata esta fase está regulada principalmente por la estimulación sensorial de las crías (Fig.1).

ETOGRAMA DE LA CONDUCTA MATERNAL

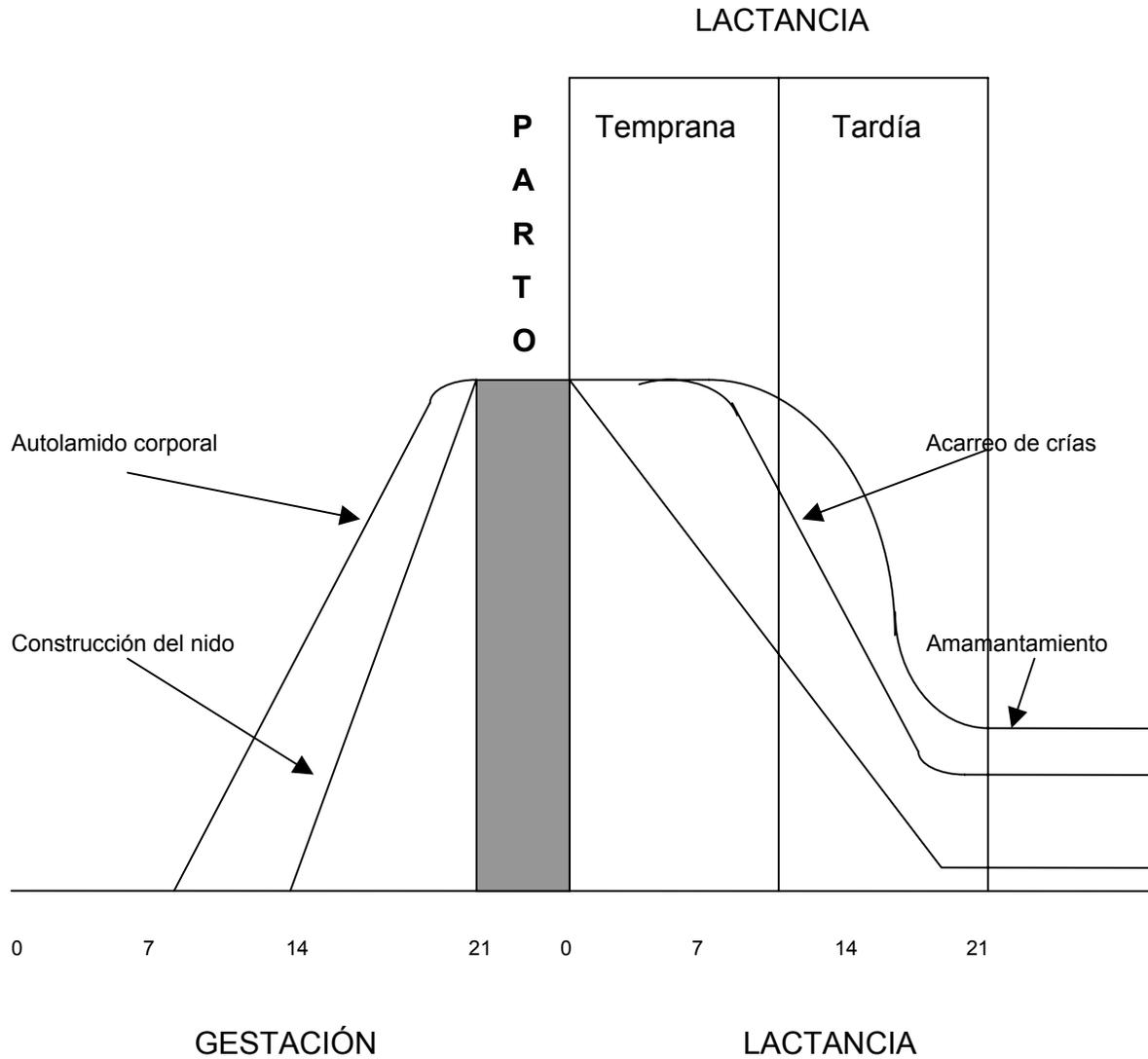


Fig.1. Curso temporal (en días) de la conducta maternal durante la etapa prenatal y postnatal.
Reproducida de González, 2003.

2.1. Comunicación madre-cría durante la conducta maternal en roedores

La comunicación implica la expresión de información de un emisor hacia un receptor, y el uso subsiguiente de esa información por el receptor al decidir como responder. El vehículo que da esa información es llamado señal. El emisor produce una señal que transmite información, la señal es transmitida al medio ambiente exterior y es detectada por el receptor. El receptor usa la información para ayudarse a tomar una decisión acerca de cómo va a responder para mantener la comunicación eficiente (Bradbury y Vehrencamp, 1998).

La comunicación entre infantes y adultos ha sido estudiada ampliamente desde hace cerca de 30 años en los roedores y en los felinos. La comunicación es dependiente del intercambio de señales sensoriales, tales como las olfatorias, visuales, auditivas, táctiles, etc. Los estímulos generados por las crías usualmente desencadenan la conducta maternal durante el período neonatal (Rosenblatt, 1967). Esta influencia puede darse al inicio de la conducta maternal, para su mantenimiento, o su regulación y declinación, sobre actividades maternas específicas, y sobre la habilidad de las madres para distinguir entre sus propias crías o las crías extrañas (Fig. 2). En este contexto las vocalizaciones y otras señales emitidas por las crías son fundamentales para su supervivencia en el medio exterior (Elwood, 1983).



Fig. 2. Interacción madre-cría durante la expresión de la conducta maternal.

Entre los roedores, la percepción hacia los cambios de temperatura aparece al nacimiento o de manera muy temprana, en el caso concreto de la rata, se observa la presencia de sensibilidad táctil pocos días después del nacimiento; por lo que se puede suponer que las señales termo-táctiles procedentes de los adultos están implicadas en la modulación de las respuestas fisiológicas y conductuales de las crías. Los roedores altriciales tales como la rata y el ratón de casa son ectotérmicos durante su estado neonatal, por lo que dependen del calor del ambiente circundante para mantener su temperatura corporal adecuada. La mayoría de los infantes regulan deficientemente su temperatura y dependen de los padres y del contacto con otros congéneres para mantenerse calientes. La temperatura de las crías depende de varios factores, que incluyen entre otros: a la temperatura ambiental, el número de crías en la camada, la edad de la camada, las propiedades de aislamiento del material del que está construido el nido, de la permanencia materna con sus crías y de la emisión de vocalizaciones para la atracción materna hacia ellas (Elwood, 1983).

En varios mamíferos terrestres, incluyendo roedores, las madres limpian a sus crías inmediatamente después del nacimiento. La cría es lamida por la madre hasta limpiarla, y de igual forma ingiere los fluidos del parto (Gonzalez-Mariscal y Poindron, 2002). La estimulación táctil asociada con el lamido inicial de la madre parece tener diversas funciones; conforme la madre limpia la región de la cabeza del neonato, puede actuar sobre el centro respiratorio, estimular indirectamente al trigémino y así facilitar el inicio de la respiración. En los roedores altriciales, el inicio de los reflejos de micción y defecación resulta de la estimulación de la región anogenital de la cría por la madre. De igual forma, cuando una cría se separa del nido, la madre la acarrea prendiéndola por la piel de la nuca y cargándola de regreso, este estímulo origina que la cría adopte una postura de extensión de las extremidades anteriores y flexión de las posteriores, de forma refleja (reflejo de transporte) hacia el estímulo táctil de la piel producido por los incisivos de la madre durante el acarreo (Brewster y Leon, 1980).

Por otra parte, la visión puede ser el mejor canal de comunicación en animales diurnos que viven en hábitats abiertos, la mayoría de los roedores son nocturnos más que diurnos, y las señales visuales parecen no constituir un muy buen canal de comunicación entre la madre y su camada. Sin embargo, la madre utiliza ampliamente su percepción de profundidad y discriminación para evitar a los depredadores, para localizar a la camada, conseguir el alimento y mantener las condiciones del ambiente del nido (Elwood, 1983). Dada la inmadurez visual de las crías es poco probable su interacción visual con la madre.

El olfato es una de las principales vías en la interacción social entre los roedores. La emisión de señales químicas del neonato (feromonas) detectadas por la madre, juega un papel importante en el inicio y mantenimiento de la conducta maternal, en el control de los niveles hormonales de la madre, en la discriminación de las crías propias y las ajenas, y en el grado de atención materna que desencadena. La base de la discriminación entre crías propias y extrañas se investigó por Beach y Jaynes (1956), en sus estudios notaron que las ratas lactantes presentaban

latencias mayores para el acarreo de crías extrañas comparado con sus propias crías. Si se presenta una mezcla de sus propias crías junto con crías ajenas, la rata lactante normalmente primero acarrea a sus propias crías. La destrucción del bulbo olfatorio, elimina estos resultados, sugiriendo que la discriminación normal se basa en estímulos olfatorios (Elwood, 1983). Durante el periodo de lactancia las crías son continuamente expuestas a los olores emanados de la madre, del nido y a los de sus compañeros de camada. Estas señales químicas pueden producirse por glándulas especializadas y ser transmitidas en las heces o la orina, saturando el área del nido y posiblemente depositándolas sobre las mismas crías. En contraste con otros canales de información, las señales olfatorias comúnmente tardan más tiempo en descomponerse, ya que la señal química puede persistir en ausencia de la madre. A pesar de la gran inmadurez del sistema olfatorio de las crías al nacimiento, es posible que puedan discriminar entre el olor materno y el olor del ambiente del nido, lo cual asegura su supervivencia (Salas y col., 1970; Schapiro y Salas, 1970). De hecho, durante el periodo postnatal temprano ocurren diversos procesos de aprendizaje olfatorio por condicionamiento, que persisten por largo tiempo. Así, Shah y cols., (2002) encontraron que hembras lactantes que fueron expuestas durante el periodo postnatal al olor al limón (colocado en el vientre de la madre) durante la succión, lamieron con mayor intensidad a las crías cubiertas con el mismo olor, que a las crías control. Sin embargo, es probable que la precaria sensibilidad olfatoria, se asocie a las capacidades del neonato en otros canales sensoriales incluyendo su habilidad para emitir vocalizaciones y demandar ayuda materna.

Las señales auditivas constituyen un canal de comunicación intra específico en los roedores, pues las vocalizaciones sirven para coordinar un amplio rango de interacciones sociales. Debido a que el sistema auditivo de los neonatos altriciales no madura completamente sino hasta 1-2 semanas después del nacimiento, las señales acústicas emitidas por los adultos no parecen ser un factor importante en las interacciones madre-cría durante la infancia temprana. En efecto, las respuestas conductuales a los estímulos auditivos típicamente comienzan a operar

a los 10 días de edad en la rata y de 9-10 días para el ratón. Sin embargo, es importante remarcar que los neonatos de esas mismas especies emiten vocalizaciones ultrasónicas antes de que sean capaces de percibir estímulos auditivos provenientes de la madre o del medio externo (Elwood, 1983), por lo que la vía auditiva constituye uno de los canales esenciales en la comunicación de las crías hacia los adultos.

2.2 Características del sonido

Antes de describir las características de los sonidos producidos por la rata recién nacida, es importante tomar en cuenta algunas características básicas del sonido y del cual las vocalizaciones son una variedad.

El sonido se define como una onda mecánica longitudinal y oscilatoria que se propaga a través de un medio elástico. Deben existir dos factores para que exista el sonido: es necesaria una fuente de vibración mecánica y también un medio elástico a través del cual se propague la perturbación de movimiento. Los sonidos se producen por una materia que vibra (Tippens, 1996).

Fisiológicamente, el sonido puede definirse como la sensación que se obtiene cuando fases alternas o cíclicas de compresión y rarefacción de las moléculas en el medio ambiente externo chocan contra la membrana timpánica del oído y activan el sistema acústico; esto es, las moléculas de aire que colindan con la membrana timpánica se comprimen y se expanden alternativamente, transmitiendo una onda. Las regiones densas en las que gran número de moléculas se agrupan acercándose mucho entre sí se llaman compresiones, las regiones que tienen relativamente pocas moléculas se conocen como rarefacciones. Debido a que el sonido se produce por la vibración longitudinal de las moléculas en el ambiente, la frecuencia y la amplitud de estos cambios en la

presión pueden graficarse contra el tiempo, resultando una serie de ondas, estas ondas se llaman ondas sonoras (Jensen, 1979; Tippens, 1996).

Las características del sonido son: tono, intensidad y timbre.

- Tono: Depende del número de ciclos por unidad de tiempo (vgr./segundo).
- Intensidad: Se relaciona con la amplitud de las ondas sonoras medidas en decibeles.
- Timbre: Depende de las ondas armónicas asociadas a la frecuencia primaria del sonido.

La intensidad de un sonido se relaciona con la amplitud de la onda que lo produce, y el tono se relaciona principalmente con la frecuencia de las ondas que producen el sonido. La amplitud de las ondas sonoras (intensidad) se mide en una escala relativa calibrada en decibeles. El bel a su vez se define como el logaritmo de la proporción de intensidad de cualquier sonido y la de un sonido estándar. La figura 3 muestra distintas intensidades para sonidos comunes.

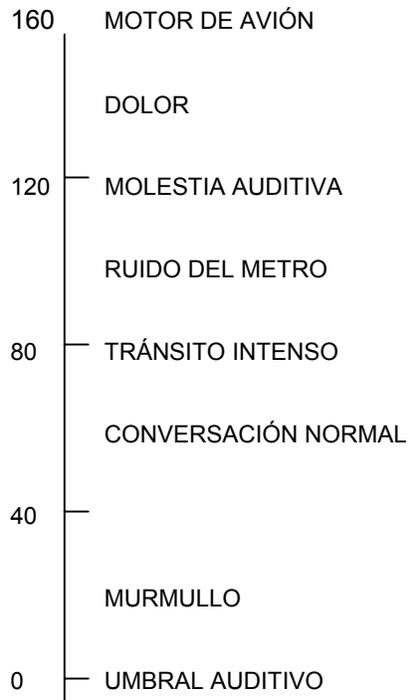


Fig. 3. Escala en decibeles (DB) para sonidos cotidianos. Tomada de Jensen, 1979.

Sonido audible: En el hombre corresponde a las ondas sonoras que tienen un rango de frecuencias de 20 a 20 000 Hz.

Infrasonidos: Las ondas sonoras que tienen frecuencias por debajo del intervalo audible se denominan infrasónicas, es decir, tienen frecuencias menores a los 20 Hz.

Ultrasonidos: Las ondas sonoras que tienen frecuencias por encima del rango audible se llaman ultrasónicas y tienen un rango de 20-120 kHz.

El oído humano puede percibir sonidos que se encuentran entre los 20 y 20 000 Hz aproximadamente. Otras especies, en particular el perro, rata, gato, murciélago y delfín pueden percibir frecuencias mucho mayores.

El oído transforma los cambios de presión que son la esencia de las ondas sonoras en movimientos físicos de la membrana del tímpano. Estos movimientos a su vez se transforman en movimientos de los huesecillos del oído, de manera que

la base del estribo induce el movimiento de la ventana oval, y estos movimientos se transmiten como ondas a los líquidos endococleares. Las ondas de presión inducidas en estos líquidos producen movimientos de la membrana basilar del órgano de Corti, que se localiza dentro del conducto coclear, y así se genera en las terminaciones de las células ciliadas un movimiento de giro o deslizamiento cuyos extremos distales están empotrados en la membrana tectoria. Las células ciliadas transforman en impulsos nerviosos la deformación mecánica de los cilios hacia las fibras terminales de la rama coclear del nervio auditivo (VIII), y cuando estas señales se transmiten a áreas corticales se perciben como sonido (Jensen, 1979; Salas y col., 1995).

En los mamíferos, las neuronas aferentes que transmiten información desde las células pilosas externas e internas del órgano de Corti, se ubican en el ganglio espiral y sus axones (bulbos de Held) penetran ipsilateralmente a los núcleos cocleares del tallo cerebral. Clásicamente a éstos se les reconoce una porción dorsal y una ventral dividiéndose esta última en una parte anterior y otra posterior. Los bulbos de Held, que transmiten la respuesta a un estímulo sonoro de alta frecuencia que proviene de la base de la cóclea, penetran profundamente en el núcleo coclear ramificándose para terminar en sus tres subdivisiones principales. En cambio, aquellas terminaciones que conducen la información de baja frecuencia provenientes de su vértice, se ramifican de una manera más superficial siguiendo un curso ascendente. Tomando en cuenta esta disposición se sabe que desde la cóclea y a todo lo largo de la vía auditiva, existe una ordenación tonotópica estructural, es decir, a cada frecuencia a la que la vía auditiva es sensible le corresponde una zona particular de la estructura anatómica de ésta (Jensen, 1979; Salas y col., 1995).

Los roedores como la rata generalmente producen vocalizaciones ultrasónicas y audibles (en relación al oído humano).

2.3 Vocalizaciones en los roedores

En los roedores se pueden apreciar la emisión de tres sonidos diferentes:

- 1) El ultrasonido, que es una frecuencia alta de un sonido que es puro; aunque la frecuencia y la intensidad pueden cambiar durante la vocalización, esto solo ocurre dentro de un rango pequeño.
- 2) Las vocalizaciones audibles, que se componen por una frecuencia principal audible con numerosas armónicas, las cuales pueden o no ser ultrasónicas. La frecuencia e intensidad de estos sonidos pueden cambiar durante la vocalización, y en un solo tiempo puede tener un amplio rango de frecuencias.
- 3) El tercer sonido es el “click” o chasquido que tiene una duración muy corta, una banda de sonido amplia y no se puede distinguir claramente el sonido fundamental de las frecuencias armónicas (Elwood, 1983).

Los ultrasonidos y las vocalizaciones audibles se producen durante la expulsión del aire de las vías respiratorias o espiración. Los sonidos audibles se producen a través de la cavidad bucal y la nariz, mientras que los ultrasonidos son emitidos únicamente mediante la cavidad bucal. La fuente de estos sonidos parece ser la parte posterior de las cavidades nasal y bucal en las cuales las resonancias ayudan a producir la estructura armónica de las vocalizaciones audibles (Elwood, 1983).

Los chillidos audibles son producidos por el paso del aire en las cuerdas vocales, pero los ultrasonidos son producidos por un mecanismo de silbido; en el que participan los movimientos en la laringe. El “chasquido” frecuentemente ocurre al inicio de la espiración y puede ser debido a una súbita liberación de la presión del aire espirado (Figs. 4 y 5). La estructura de las vocalizaciones puede ser estudiada por medio del análisis espectral de la vocalización, es decir, teniendo una imagen donde se contemple la frecuencia (kHz) contra la duración de la vocalización.

Tonkiss (2003) analiza las vocalizaciones ultrasónicas de ratas normales y desnutridas con la ayuda de un programa para editar sonidos.

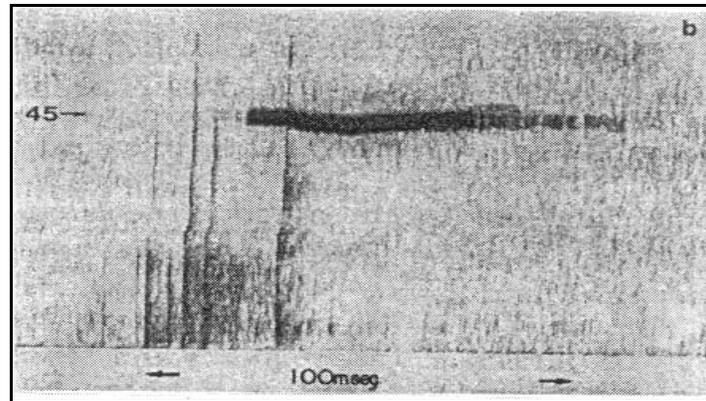


Fig. 4. Vocalizaciones ultrasónicas de una rata de 6 días de edad.
La frecuencia en kHz se indica en el eje vertical y la duración (mseg) en el eje horizontal (Elwood, 1983).

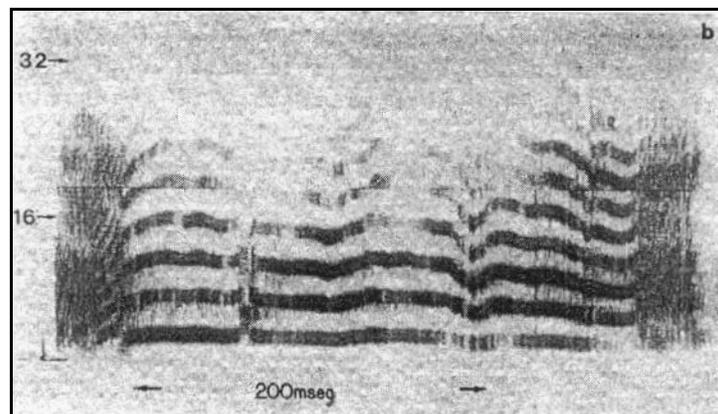


Fig.5. Vocalizaciones audibles de una rata de 6 días de edad.
La frecuencia en kHz se indica en el eje vertical y la duración (mseg) en el eje horizontal (Elwood, 1983).

Varios autores han tratado de estudiar los sonidos emitidos por las crías de ratas en distintas condiciones y al respecto la Tabla 1 resume algunos de estos estudios.

Tabla 1. Estudios sobre vocalizaciones en la rata.

ESTÍMULO	EDAD POSTNATAL	AUTOR
Aislamiento de crías	1-12 días de edad	Noirot y Pye, 1969
Hipotermia corporal	1 semana de edad	Allin y Banks, 1971
Estimulación térmica	1 semana de edad	Okon, 1971
Estimulación táctil, olfatoria y térmica	5-13 días de edad	Oswalt y Meier, 1975
Estimulación eléctrica, manipulación táctil y enfriamiento	7-15 días de edad	Hunt y col., 1976
Interacción social y aislamiento	10-14 días edad	Hofer y Shair, 1987
Separación de crías	10 días de edad	Kehoe y Blass, 1986
Post-ingestión láctea	10 días de edad	Blass y Fitzgerald, 1988
Drogas ansiogénicas y aislamiento	6 días de edad	Insel y col., 1988
Abstinencia post morfina	15 días de edad	Barr y Wang., 1992
Hipotermia anestésica	9-10 días de edad	Hofer y Shair., 1992
Lamido anogenital materno	1-5 días de edad	Brouette-Lahlou y col., 1992

Las características de los ultrasonidos van cambiando con la edad de las crías. En este sentido Sales y Smith (1978) reportaron que conforme las crías crecen, las vocalizaciones llegan a ser más cortas y más frecuentes. En la Tabla 2 se resume el curso temporal de las variaciones en las vocalizaciones, así como sus características en dos cepas de rata.

Tabla 2. Parámetros de vocalizaciones ultrasónicas de ratas infantiles en desarrollo.

ESPECIES	EDAD (días)	DURACIÓN (mseg)	FRECUENCIA (Khz)	AMPLITUD DE BANDA (Khz)
<i>Rattus norvegicus</i> Wistar/Lister	1-4	8-160 (34-140)	45-112 (45 – 70)	2-25 (3-12)
	5-14	2-205 (2-135)	35-90 (40 – 65)	1-35 (1-15)
	+ 15	1-170 (5-150)	30-100 (30-70)	1-45 (1-20)
<i>Rattus exulans</i>	7	3-140 (3-25)	35-80 (40-50)	1-20 (1-5)

Para los ratones la tasa de emisión de vocalizaciones ultrasónicas en aislamiento sigue un perfil ontogénico característico, se incrementa durante los primeros 5-6 días de vida, alcanza un pico cerca de los días 6-7, y declina hasta su desaparición cerca de la segunda semana postnatal (Fig. 6).

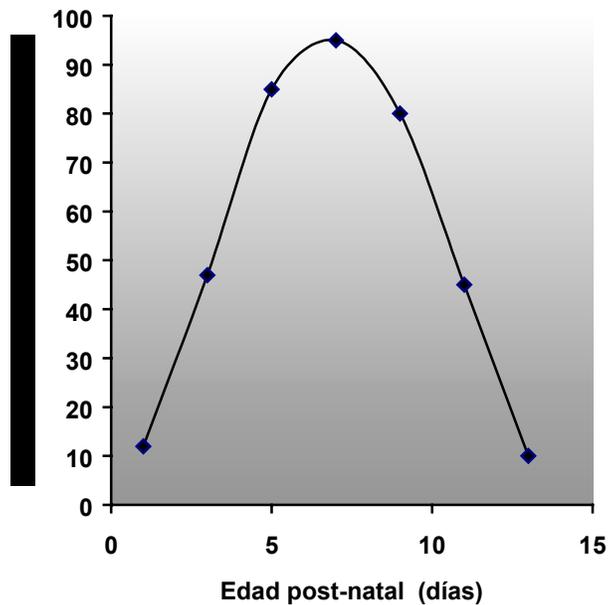


Fig. 6. Perfil ontogénico de ultrasonidos emitidos por infantiles de ratón en aislamiento (Elwood y Keeling, 1982).

Durante el período pre-destete del ratón, la emisión de vocalizaciones puede presentarse en 2 formas; cuando la camada está sola, la emisión es de baja frecuencia e intensidad, esto es, esencialmente el resultado del descenso térmico y de la falta de contacto con la madre. Esta emisión de vocalizaciones es constante hasta los 5 a 7 días de edad, para luego reducirse gradualmente hasta el día 12 posparto (Noirot, 1968). El segundo tipo de vocalizaciones es de mayor frecuencia e intensidad que el anterior y se presenta en respuesta al acarreo materno, a la manipulación materna y de los congéneres así como al estrés provocado por el dolor y el hambre (Sewell, 1968). Las vocalizaciones de este tipo son constantes desde el nacimiento hasta los 10 días postnatales, y luego van creciendo gradualmente hasta los 37 días de edad cuando finalmente desaparecen. Se ha sugerido que estas vocalizaciones tienen por propósito el reducir la agresión y la brusquedad de los progenitores así como de extraños que rondan el nido (Sewell, 1968).

El hecho de que el número de vocalizaciones cambie con la edad de las crías, permite intuir acerca de las causas de la emisión de las mismas; ya que el decremento en el número de vocalizaciones se correlaciona con un incremento en la habilidad termorreguladora. La temperatura es el factor más importante en la producción de vocalizaciones ultrasónicas. Otros factores además de la temperatura pueden promover la emisión de vocalizaciones ultrasónicas. Así, Conely y Bell (1978), reportan que los infantes producen más ultrasonidos cuando se exponen a olores asociados con hembras adultas que con machos adultos, sugiriendo que el olor de las hembras podría tener propiedades olfatorias distintas a las del macho para provocar vocalizaciones. Por otra parte, la estimulación táctil también interfiere en la emisión de vocalizaciones ya que el aislamiento de las crías de la madre y hermanos la provoca y el contacto físico la mitiga. Las vocalizaciones ultrasónicas se detectan bajo diferentes condiciones y estímulos; mientras que las vocalizaciones audibles solo se presentan durante la estimulación táctil.

2.4 Malnutrición y estimulación sensorial en roedores

2.4.1 Métodos experimentales para restringir la ingesta de alimento durante el periodo de amamantamiento

Los procedimientos experimentales utilizados para restringir la ingesta de alimento durante el periodo perinatal son muy diversos, y cada uno presenta tanto ventajas como desventajas que el investigador deberá ponderar para decidir su uso dependiendo de las hipótesis propuestas. En este contexto, puede afectarse el desarrollo fetal mediante la restricción de un porcentaje significativo de la dieta (50%) de la madre embarazada (Pérez-Torrero y col., 2003). Asimismo, reduciendo el contenido de proteína en la dieta (vgr. 6% de caseína) de la madre gestante, manteniéndose el carácter isocalórico de la dieta (Díaz-Cintra y col., 1994).

Experimentalmente, existen un sin número de estudios enfocados en efectuar la restricción de alimento durante la etapa neonatal. Por ejemplo, se puede desnutrir a los recién nacidos separando a la mitad de la camada (n=4) en una incubadora (28°C) por 12 h al día, durante los primeros 24 días postnatales, evitando así la ingesta de agua y alimento y la percepción de estimulación sensorial y social proveniente de la madre, compañeros de camada y del ambiente del nido (Mourek y col., 1967; Torrero y col., 2003). El mismo efecto lo produce el amordazamiento de las crías por 12 h mediante la oclusión del hocico de las mismas con cinta adhesiva, y 12 h liberando la mordaza para facilitar la nutrición del día 1 al 21 de edad (Misanin y col., 1979). En otros procedimientos, se ligan los conductos galactóforos a una de un par de madres lactantes, y se mantiene a las crías 12 h al día con la madre ligada y 12 h con la madre no ligada intercambiándolas diariamente, durante los primeros 24 días postnatales. De esta manera las crías restringen su ingesta de leche pero no tienen atenuada la privación sensorial materna y medio ambiental (Lynch, 1976).

De la misma forma se puede restringir la ingesta de alimento de las crías, aumentando el número de las crías en la camada (n=25 crías), lo cual incrementaría la competencia por el acceso a las doce glándulas disponibles de la rata lactante, con la consecuente restricción de alimento a toda la camada (Crnic, 1980).

Todos estos métodos son utilizados de manera experimental para inducir desnutrición en las crías durante los primeros días, y cada procedimiento podrá utilizarse de acuerdo a la solución de los problemas que se plantean.

2.4.2 Alteraciones asociadas a la malnutrición

La privación perinatal de alimento en la rata, es una de las influencias nocivas que con mayor frecuencia alteran los procesos de organización del substrato neuronal de distintas áreas cerebrales así como su función. Así se sabe que utilizando distintos paradigmas de desnutrición, se altera la formación de neuronas, su migración y diferenciación (Lewis y col., 1975), la formación de sinapsis, el crecimiento dendrítico y el depósito de mielina tanto en estructuras corticales como subcorticales (Cragg, 1972; Salas y col., 1974; Fuller y Wiggins, 1984; Morgane y col., 1992; Garcia-Ruiz y col., 1993; Escobar y Salas, 1995; Torrero y col., 1999; Perez-Torrero y col., 2001). Estas alteraciones guardan una estrecha correlación con alteraciones tanto en el desarrollo reflejo como en la expresión de patrones complejos de conducta (Salas, 1972; Salas y col., 1991; Gramsbergen y Westerga, 1992; Loranca y col., 1999; Torrero y col., 2000). Dentro de las alteraciones a largo plazo en la función cerebral, destacan las deficiencias en la respuesta maternal de ratas que fueron desnutridas durante el periodo perinatal. Así de estos estudios se conoce que durante el estado adulto y cuando las madres ya no tienen deficiencias en su nutrición, construyen pobremente sus nidos, pasan menos tiempo alimentando a sus crías, tienen latencias prolongadas para

acarrearlas cuando han sido intencionalmente separadas del nido. Por otro lado, las lamen menos durante la crianza y muestran un exceso de autolamido a las diferentes partes de su cuerpo (Galler y Propert, 1982; Salas y col., 1984; Regalado y col., 1999). Asimismo, acarrear deficientemente a sus crías transportándolas por diferentes partes del cuerpo y no por la región de la nuca como las ratas normales (Salas y col., 2002). Sin embargo, poco se sabe acerca de las alteraciones en la emisión de vocalizaciones en este modelo de desnutrición temprana por parte de las crías, tanto cuando la madre es separada de las crías, como durante la respuesta maternal y el acarreo de éstas hacia el nido.

Uno de los factores que probablemente influya en la producción de ultrasonidos es el estado nutricional de los neonatos. Así, las crías malnutridas emiten menores vocalizaciones comparadas con las bien nutridas (Tonkiss y col., 2003). Posiblemente, los factores nutrimentales y especialmente la carencia de alimento puede influir en la forma en que las madres cuidan a sus crías, y por tanto, también puede influir en la emisión de vocalizaciones de las mismas.

2.4.3 Estimulación sensorial

Por otro lado, de estudios previos se sabe que el masaje por parte del experimentador o la exposición de las crías recién nacidas hacia ambientes enriquecidos en estímulos sensoriales, son capaces de promover el desarrollo neuronal y la función cerebral. Se ha comprobado que la estimulación sensorial temprana acelera el desarrollo cortical incrementando el grosor de la corteza cerebral, el crecimiento de los árboles dendríticos en sus porciones distales y el número de espinas y sinapsis en las neuronas piramidales grandes de la neocorteza (Rosenzweigh y col., 1969; Schapiro y Vukovich, 1970; Kenny y Turkewitz, 1986). Asimismo, incrementa el depósito de mielina y la velocidad de conducción de los nervios en el SNC promoviendo el desarrollo de la actividad eléctrica cortical provocada por la aplicación de estímulos sensoriales (Leah y col.,

1985). Desde el punto de vista conductual la estimulación sensorial temprana mejora la respuesta al estrés, incrementando su actividad exploratoria, la conducta maternal y el aprendizaje (Levitsky y Barnes, 1972; Gonzalez y col., 2001; Padoin y col., 2001; Salas y col., 2001). Ante situaciones de conflicto en ambientes hostiles la respuesta emocional es menor, defecando y orinando menos. Además la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH), de adrenocorticotropina (ACTH) y de corticoides suprarrenales es menor con respecto a los animales no estimulados (Francis y col., 1999; Meaney y col., 2000; Gonzalez y col., 2001). Por otra parte, si dichos estímulos sensoriales tempranos son aplicados a crías desnutridas, el incremento normal de la respuesta emocional causado por la malnutrición caracterizado por congelamiento, piloerección, micción, defecación y escasa exploración, se ve notablemente atenuado. (Levitsky y Barnes, 1972; Frankova, 1973; Escobar y Salas, 1987).

Se sabe que la desnutrición durante el periodo perinatal, así como la estimulación sensorial en la rata afecta de manera directa, o bien indirectamente la comunicación madre-cría, y que muchos aspectos de esta comunicación todavía no tienen una explicación clara, por lo que el presente trabajo pretende estudiar la emisión de vocalizaciones como uno de los aspectos de la comunicación madre-cría en la rata.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se sabe que los recién nacidos de especies altriciales por su marcada inmadurez cerebral, tienen notables restricciones para la comunicación con su madre; no obstante, la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas emitidas por éstas y decodificadas por la madre, constituyen una forma importante para que las crías reciban la atención materna para su supervivencia. Asimismo, se sabe que la restricción neonatal de alimento interfiere severamente con el desarrollo de la conducta maternal que se observa en el estado adulto, pues las crías reciben poca atención materna. Sin embargo, dicho proceso puede ser modificado mediante la aplicación de estimulación sensorial temprana. En este estudio, se registran las vocalizaciones audibles y ultrasónicas emitidas por las crías durante el curso de la conducta maternal. La posible alteración en la emisión de vocalizaciones por parte de las crías recién nacidas, dará fundamento a una alterada comunicación madre crías en la progenie de sujetos desnutridos durante la primera generación. Esta respuesta alterada de la emisión de vocalizaciones de las crías, será modificada cuando a las madres desnutridas durante el período neonatal, que posteriormente serán estudiadas en su conducta maternal cuando adultas, se les someta a rutinas de estimulación sensorial temprana.

Con fundamento en estos antecedentes se consideran las siguientes hipótesis:

4. HIPÓTESIS

1. Durante la expresión de la conducta maternal, habrá una reducción en la frecuencia de emisión de vocalizaciones de las crías de madres desnutridas respecto a sus controles.
2. Las crías de madres control estimuladas y desnutridas estimuladas emitirán menor número de vocalizaciones en comparación con sus controles.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de vocalizaciones de las crías recién nacidas provenientes de madres que fueron desnutridas o desnutridas y estimuladas sensorialmente durante la etapa postnatal.

5.2 Objetivos específicos

1. Evaluar la expresión de la conducta maternal (acarreo de las crías, amamantamiento, autolamido de la madre y lamido dirigido a las crías) de madres que fueron desnutridas o desnutridas y estimuladas durante el período postnatal.
2. Determinar la frecuencia de vocalizaciones audibles y ultrasónicas emitidas por las crías de madres con distinto tratamiento neonatal durante la interacción madre-crías.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en ratas adultas y sus primeras camadas de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*) nacidas en el bioterio del Instituto de Neurobiología, Campus Juriquilla de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las madres y sus crías se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio de 12 h de luz (08:00 – 20:00 h) por 12 h de oscuridad, en un cuarto con temperatura controlada a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, teniendo la madre libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina). El protocolo experimental que se utilizó en el presente estudio, fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM, que está acorde con la norma internacional para el uso y manejo de animales de experimentación.

6.1 Sujetos experimentales

Para la obtención de las madres a las que se les estudió su conducta maternal dirigida hacia las crías, en las que se analizó la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas a lo largo de la lactancia, se siguió el siguiente procedimiento:

Se aparearon 12 ratas hembras vírgenes (200-300 g) por grupo experimental con 3 machos adultos normales en cajas de plástico transparente (50 x 40 x 20 cm) con agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*, colocando 4 hembras con 1 macho por caja. Aproximadamente 4 días antes del parto, las ratas preñadas se colocaron en cajas individuales de maternidad de plástico transparente (45 x 30 x 20 cm), con aserrín en el piso (3 cm de altura), agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Para la verificación de la fecha de parto de las ratas preñadas se revisaron las cajas de maternidad diariamente por la mañana (09:00 h) y por la noche (20:00 h). En caso de identificar crías recién nacidas con la madre o que ésta se encontrase pariendo, se anotó esa fecha como día cero de edad. Pasadas 24 h después del parto, se mezclaron a las crías provenientes de varias madres

que hubiesen parido el mismo día, ajustándose cada camada a un total de 8 crías por madre (4 hembras y 4 machos) (Fig. 7). Este procedimiento de redistribución de crías a cada una de las madres, tuvo como propósito el reducir la influencia de posibles factores genéticos y diferencias biológicas entre las camadas que pudieran afectar los resultados del estudio.

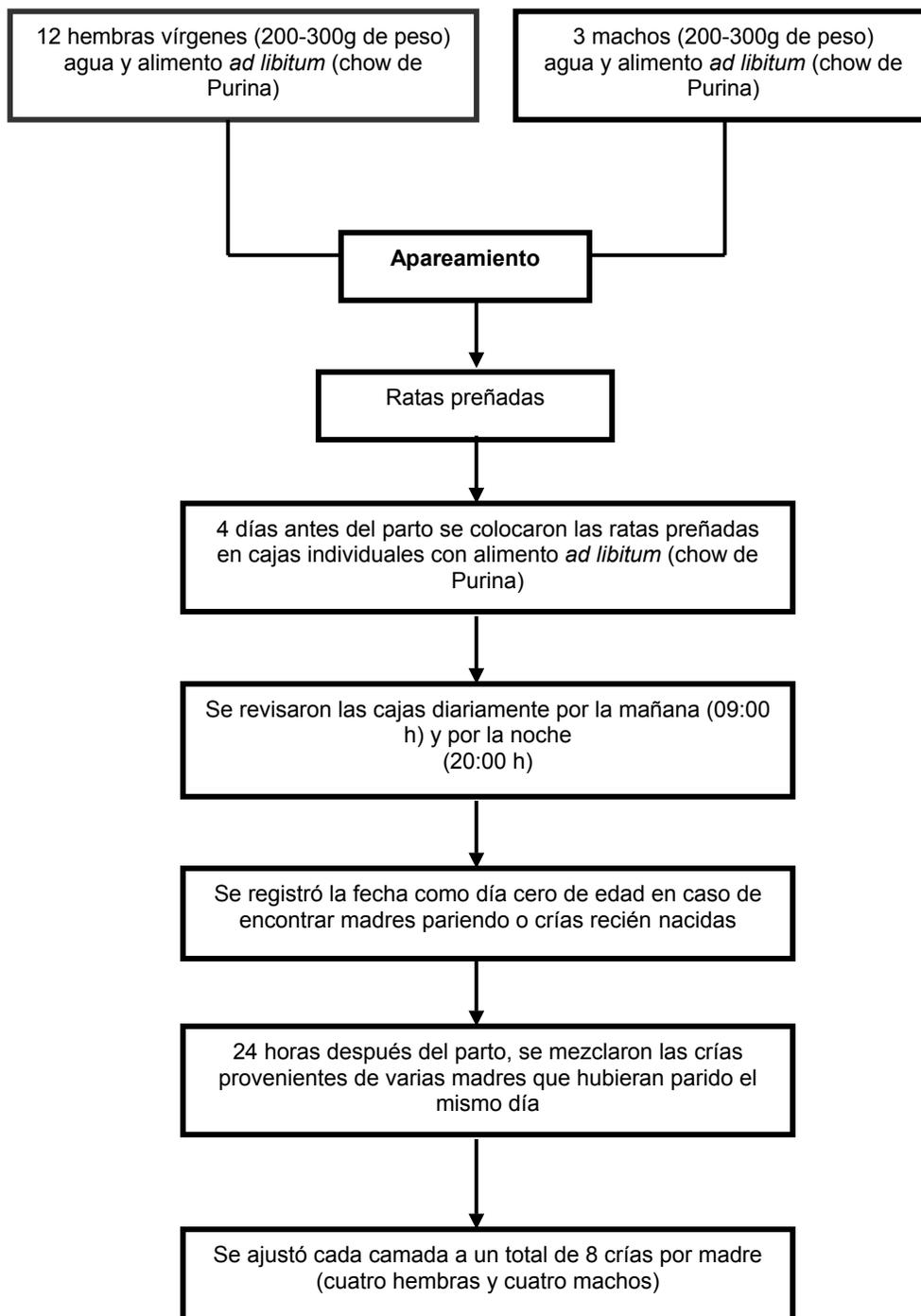


Fig. 7. Procedimiento, obtención y distribución de sujetos

6.2 Maniobras experimentales

6.2.1 Desnutrición

El procedimiento de desnutrición de las crías hembra a las que se les registró su conducta maternal durante el estado adulto, se realizó de acuerdo al método de separación parcial diaria de las mismas. Se tomaron 4 crías de una camada, de un total de 8 crías por camada (4 hembras y 4 machos) colocándolas en una incubadora (ver Fig. 8) a temperatura regulada (28°C) durante 12 h (08:00 a 20:00 h) del día 1 al día 24 de edad. Los animales restantes (n=4) permanecieron en el nido con la madre para atenuar la rápida declinación de la lactancia causada por la poca estimulación de los pezones, y no se incluyeron en el experimento. En este método de desnutrición las crías que permanecieron en la incubadora, además de desnutrirse y mantener su temperatura, fueron privadas de los estímulos sensoriales provenientes de la madre, de los hermanos y del medio ambiente del nido (Fig. 9). Durante el procedimiento de desnutrición, se marcó a las crías desnutridas con un punto de color deleble en la cabeza igual al de su camada, para identificarlas fácilmente al regresarlas con la madre al nido correspondiente después de cada sesión de desnutrición.



Fig. 8. Condiciones de bioterio para las maniobras experimentales (a la derecha incubadora donde se colocó a las crías durante el proceso de desnutrición).

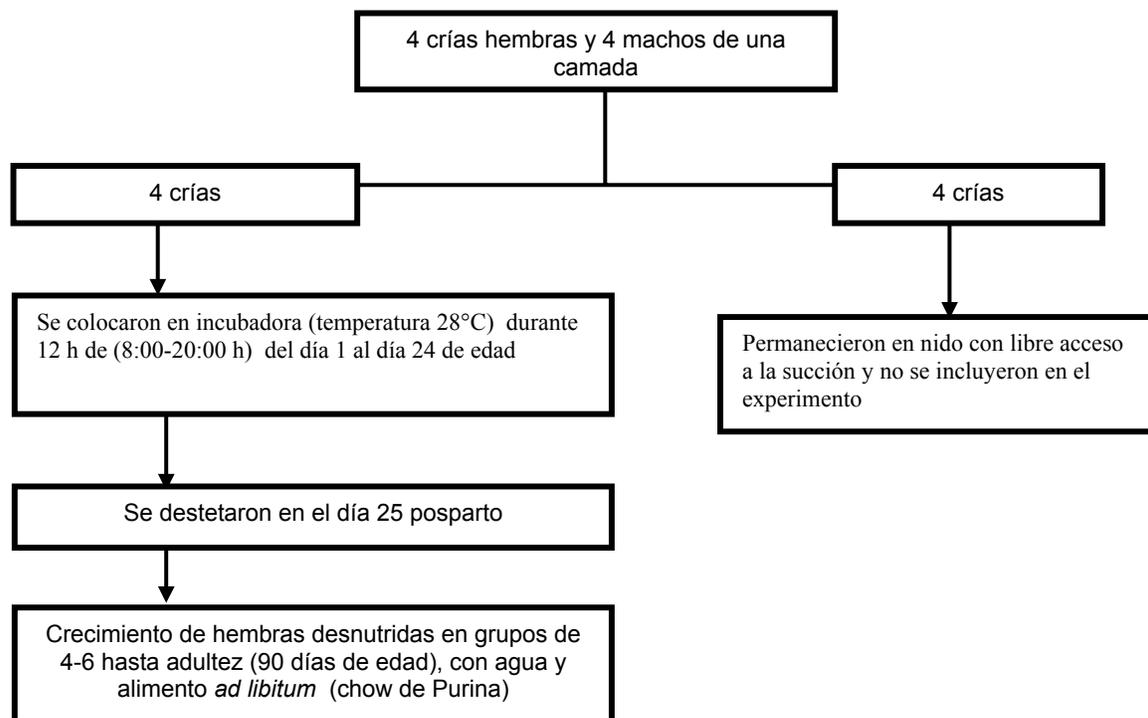


Fig. 9. Desnutrición de las crías hembra a las que se analizó su conducta maternal en la etapa adulta (método de separación parcial diaria).

Para el estudio se formaron 4 grupos experimentales:

1. Grupo C: Ratas control sin privación de alimento provenientes de camadas que permanecieron todo el tiempo con la madre en el nido con libre acceso a la succión, excepto por períodos breves de tiempo para registrar su peso corporal.
2. Grupo CE: Ratas sin privación de alimento, que recibieron además de la estimulación sensorial habitual de la madre, estimulación sensorial temprana adicional.

3. Grupo D: Ratas desnutridas que se les privó de alimento por 12 h al separarlas de sus madres y compañeros de camada y colocarlas en una incubadora.
4. Grupo DE: Ratas desnutridas tratadas de la misma forma que el grupo anterior (D), pero que recibieron estimulación sensorial temprana (ver Fig.10).

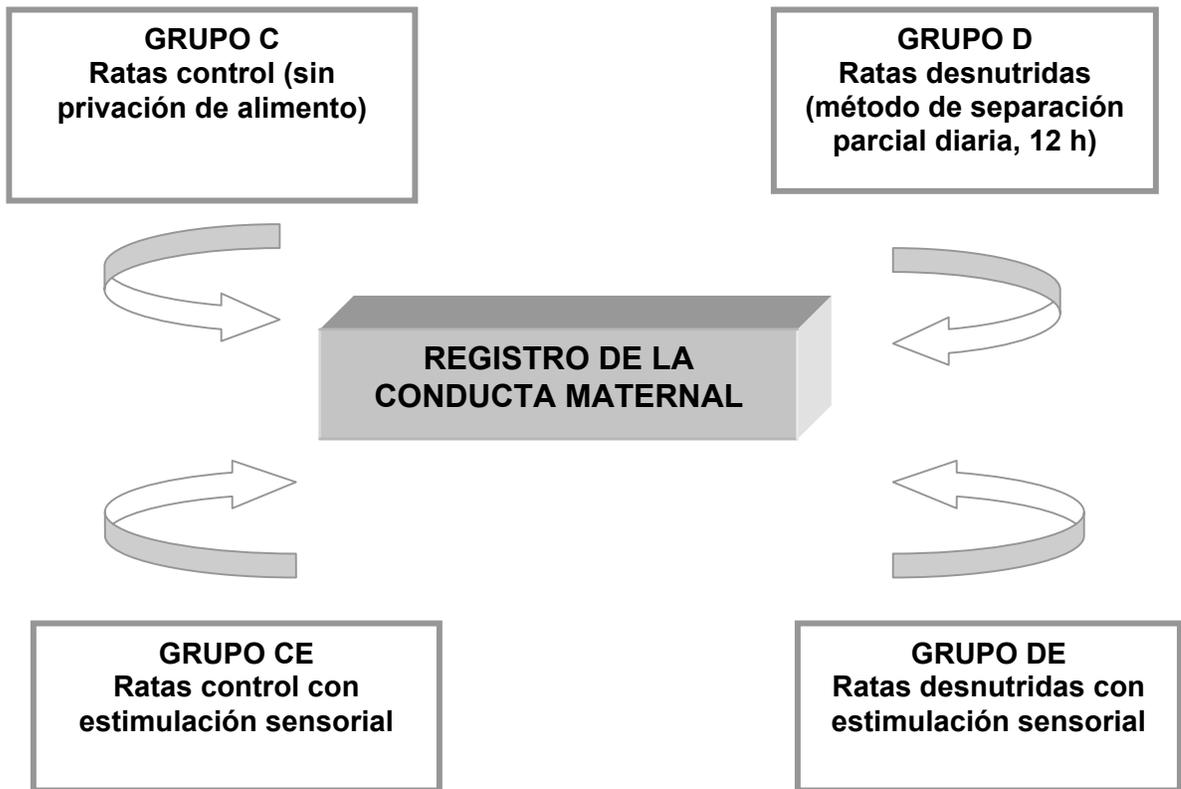


Fig. 10. Grupos experimentales utilizados en el estudio.

Con el propósito de evaluar el impacto provocado por el paradigma de desnutrición, se midió el desarrollo físico de las crías a través de la verificación del peso corporal cada 5 días (días 5, 10, 15, 20, 25 y 30 posparto) en cada uno de los grupos experimentales (Fig. 11).

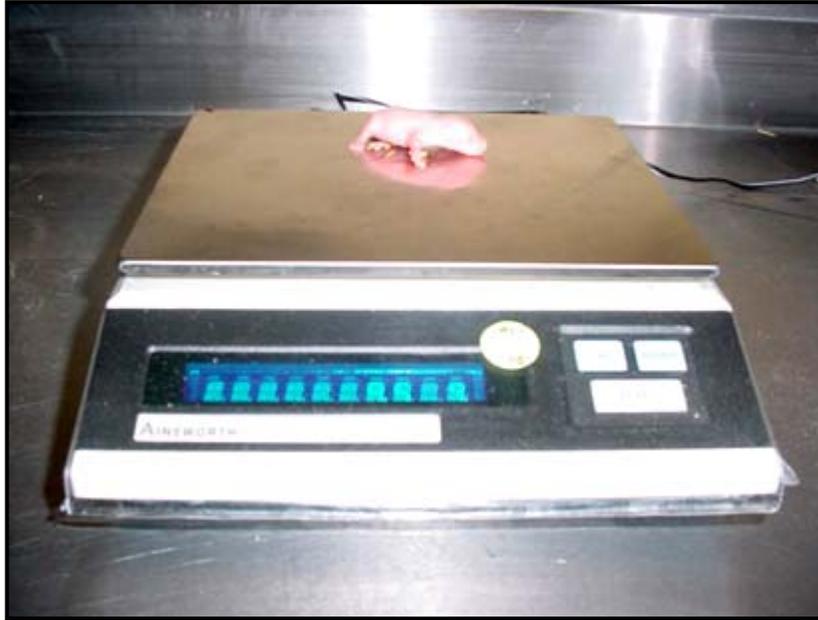


Fig. 11. Báscula digital para el peso de las crías.

En todos los casos el destete se realizó en el día 25 de edad, continuando las crías su crecimiento en cajas de plástico transparente (40 x 60 x 20 cm) en grupos de 4 a 6 ratas hembra con libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina), que fueron evaluadas en la expresión de la conducta maternal durante su estado adulto (90 días de edad).

6.2.2 Estimulación sensorial

La estimulación sensorial temprana de los grupos CE y DE se llevó a cabo mediante el masaje de las crías del día 1 al 14 de edad. Para este fin, se utilizó una caja de plástico transparente (35 x 15 x 20 cm) con cama de aserrín en el piso de 3 cm. La estimulación sensorial consistió en aplicar masaje con guantes a las

crías (tacto, presión, temperatura) y estimulación vestibular cambiándoles frecuentemente su postura durante 10 minutos una vez al día (Fig. 12).



Fig. 12. Aplicación de masaje en ratas como medio de estimulación.

Del día 15 al 30 posparto las crías estimuladas de cada camada se colocaron (30 min) en una caja de plástico transparente (50 x 40 x 20 cm) con cama de aserrín de 3 cm en el piso. La caja incluyó ocho “juguetes” de plástico y de madera (escaleras, pelotas, formas geométricas, rampas de plástico, rueda de ejercicio, cascabeles, espejos, etc.) los cuales se cambiaron diariamente en forma aleatoria con la ayuda de la tabla de números al azar (Fig. 13 y 14). Durante la exposición de las crías se sintonizó una estación de radio (Regalado y col., 1999). Este tipo de estimulación es utilizado frecuentemente en trabajos previos de nuestro grupo, por lo que se decidió usar este mismo paradigma debido al interés del estudio en indagar los efectos sobre la emisión de vocalizaciones de las crías de madres que recibieron este tipo de estimulación sensorial (Regalado y col., 1999).



Fig. 13. Ejemplo de un medio ambiente enriquecido durante la estimulación sensorial.



Fig. 14. Ejemplo de un medio ambiente enriquecido durante la estimulación sensorial.

Una vez que las hembras de los 4 grupos experimentales alcanzaron la edad de 90 días (200-300 g), se les cruzó con machos control de edad similar. Las primeras camadas de las madres de los distintos grupos experimentales, fueron estudiadas en su emisión de vocalizaciones y las madres en su respuesta maternal a lo largo de los 21 días de lactancia.

6.3 Registro y caracterización de las vocalizaciones emitidas durante la conducta maternal

6.3.1 Registro de la conducta maternal

Para el registro de la conducta maternal, las cajas de maternidad con las camadas se movilizaron del área del bioterio a la cámara de registro 30 minutos antes de la prueba con el propósito de habituar a los animales al área de registro. Para la ejecución de experimentos donde se estudiaron patrones de conducta maternal el tiempo de habituación varió, desde los 10 hasta los 30 minutos, dependiendo del grupo de investigación. En este experimento, las pruebas de conducta maternal cuya duración fue de 10 minutos se llevaron a cabo cada cinco días entre las 10:00 y las 14:00 h, del día 1 al 21 de la lactancia en una cámara amortiguada al sonido (3.50 x 3.10 x 2.50 m) anexa al área principal del laboratorio.

El registro de la conducta maternal se llevó a cabo utilizando, una videocámara (modelo SLV-X511) a la que se conectó un micrófono ambiental (marca Shure). Los registros se tomaron durante 10 minutos independientemente de lo que estuviera haciendo la hembra. El área de registro se iluminó con luz roja (75W) con el propósito de reducir el estrés materno hacia el ambiente. Se realizó un análisis posterior de los registros por medio del programa The Observer-Video-Pro.

Para evaluar la conducta maternal se midieron los siguientes componentes: amamantamiento, autolamido de las madres, lamido hacia las crías. Cada uno de los componentes de la conducta maternal se definieron de acuerdo a los siguientes criterios:

1. Amamantamiento. Se midió en las grabaciones después de los registros y se definió como el tiempo que permaneció la madre amamantando a sus crías y mostrando una posición de campana o lordosis (Fig. 15). A partir de este componente de la conducta maternal, se midieron frecuencia, latencia y duración.

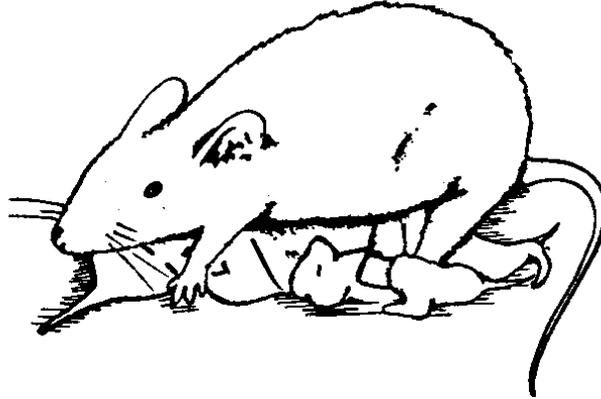


Figura 15. Amamantamiento de las crías.

2. Autolamido de la madre. Se midió a partir de las grabaciones, y correspondió al número de veces que la madre se autolamió distintas partes de su cuerpo (manos, cara, cabeza, hombros, flancos y región anogenital) durante los 10 minutos de registro. Se registraron la latencia, frecuencia y duración de esta conducta.
3. Lamido de las crías. Se midió en las grabaciones de la conducta maternal, y correspondió al número de veces que la madre lamió a sus crías en alguna región del cuerpo durante el registro de 10 minutos (Fig. 16). Se registraron la latencia, frecuencia y duración de esta conducta.



Fig. 16. Lamido de la madre hacia las crías.

6.3.2 Caracterización de las vocalizaciones

Acarreo de crías. Esta conducta se midió en los días 4, 8 y 12 posparto. Este parámetro se definió como el tiempo que le llevó a la madre en recoger a la primera de sus crías intencionalmente dispersadas (Fig. 17). Se estudió la latencia y duración de esta conducta. En todos los casos se dio un máximo de 180 segundos para la ejecución del acarreo, registrándose las vocalizaciones emitidas por las crías de cada grupo experimental antes y durante la conducta de acarreo. La conducta de acarreo se estudió durante los días 4, 8 y 12 postparto, debido a que a partir del día 12 este componente de la conducta maternal comienza a declinar (Elwood, 1983), asimismo, de estudios previos en nuestro grupo de investigación, se han considerado estas edades (Salas y col., 2002).



Fig. 17. Acarreo de las crías.

1. Antes del acarreo: Se registraron las vocalizaciones audibles y ultrasónicas de las crías durante los 2 minutos previos al acarreo.
2. Durante el acarreo: Se registraron las vocalizaciones ultrasónicas y audibles emitidas por las crías.

El registro conductual y de las vocalizaciones audibles se llevó a cabo con el mismo equipo empleado para las pruebas de conducta maternal. Para obtener el registro de las vocalizaciones ultrasónicas de las crías se utilizó un detector de ultrasonidos para murciélagos Mini-3 Bat Detector (20-160 KHz) (Fig. 18).



Fig. 18. Mini-3 Bat Detector empleado en el registro de vocalizaciones ultrasónicas.

La información de video y de audio fue analizada con la ayuda del programa Observer-Video-Pro.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de las muestras experimentales obtenidas en los diferentes grupos se compararon utilizando el programa Systat versión 7.

Primeramente se determinó la curva de distribución de las muestras. En caso de tratarse de una curva de distribución normal; para el caso de los pesos corporales de las crías se utilizó un ANOVA de 2 vías con medidas repetidas, 4 (condiciones experimentales) por 6 (edades). Los niveles significativos mínimos se establecieron en un nivel menor o igual a 0.01. Se utilizó la prueba *post hoc* de Tukey para días particulares del estudio.

Para el análisis de los registros obtenidos en el amamantamiento, autolamido de la madre, lamido de las crías y emisión de vocalizaciones, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los niveles significativos mínimos se establecieron en un nivel menor o igual a 0.05. Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, como prueba *post hoc*.

8. RESULTADOS

8.1 Peso corporal

El análisis estadístico de las diferentes mediciones obtenidas en el estudio indica que el tratamiento experimental aplicado a cada uno de los grupos tuvo repercusiones tanto en el peso de las madres, como en el de las crías, como se muestra a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Efectos de la condición experimental (desnutrición y estimulación) y de la edad sobre el peso corporal.

PESO CORPORAL	A. Condición experimental	B. Edad	AxB: Edad*Condición experimental
Peso de las madres (F0)	gl(3,59)=194.82 p≤0.0001 *	gl(6,354)=2720.56 p≤0.0001 *	gl(18,354)=48.61 p≤0.0001 *
Peso de las crías (F1)	gl(3,244)=31.59 p≤0.0001 *	gl(4,976)=8061.9 p≤0.0001 *	gl(12,976)=10.315 p≤0.0001 *

* Diferencias estadísticamente significativas, ANOVA p≤0.01.

En la tabla 3 se incluye el análisis estadístico entre condición experimental a lo largo de todos los días de estudio; de igual forma se presenta el resultado de las comparaciones entre edades; asimismo, se presenta la comparación entre ambos factores, es decir, entre edades y condición experimental.

Al analizar el desarrollo del peso corporal de las madres (F0) de acuerdo a cada condición experimental, hubo diferencias significativas (ANOVA, p≤0.01), entre los grupos a lo largo de los días de estudio al igual que en la comparación entre las edades. Los grupos desnutrido y desnutrido estimulado, presentan un menor peso respecto a los controles, por lo que se comprueba que la condición experimental tuvo repercusiones importantes en este parámetro.

Para estudiar las diferencias significativas en cada uno de los días de registro se usó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el desnutrido del día 5 al 30 de registro, siendo los desnutridos los que presentaron un peso menor. Asimismo, hubo diferencias significativas entre los controles estimulados y desnutridos estimulados en los días 5 al 30 de edad. También se encontraron diferencias significativas entre control y control estimulado en los días 10, 25 y 30 de edad; y entre desnutrido y desnutrido estimulado los días 25 y 30 de edad, siendo los desnutridos con estimulación los que presentaron un menor peso (Fig. 19). Asimismo, en todos los grupos estudiados hubo un aumento en el peso corporal con relación a la edad.

Peso corporal de las madres (F1)

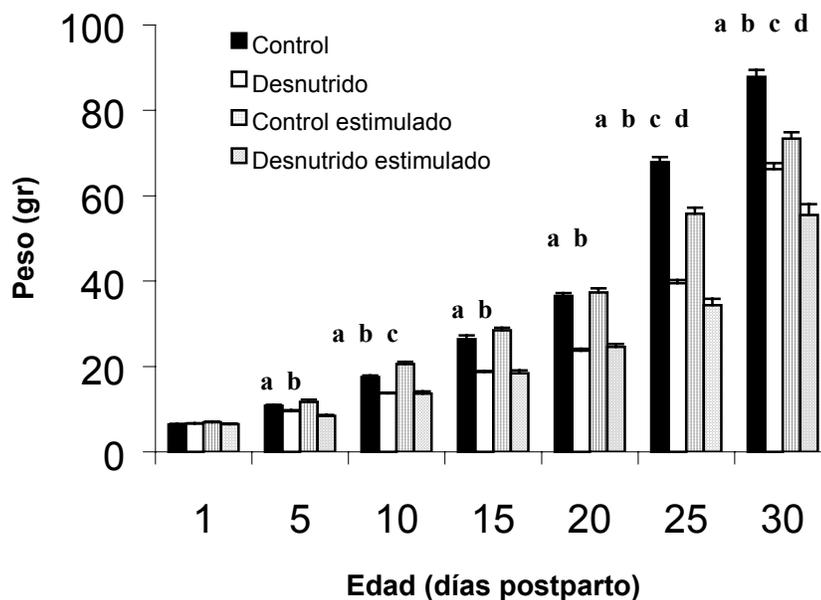


Fig. 19. Peso corporal de madres (F0) sometidas a diferentes condiciones experimentales durante sus primeros 30 días de vida, ANOVA, $p \leq 0.01$. En esta figura y en las subsiguientes,

a indica diferencias significativas entre control y desnutrido,

b diferencias entre control estimulado y desnutrido estimulado,

c diferencias entre control y control estimulado y

d diferencias entre desnutrido y desnutrido estimulado.

El análisis estadístico de los datos mostró diferencias significativas (ANOVA, $p \leq 0.01$) en el peso corporal de las crías provenientes de madres tratadas con las distintas condiciones experimentales.

Peso corporal de las crías (F2)

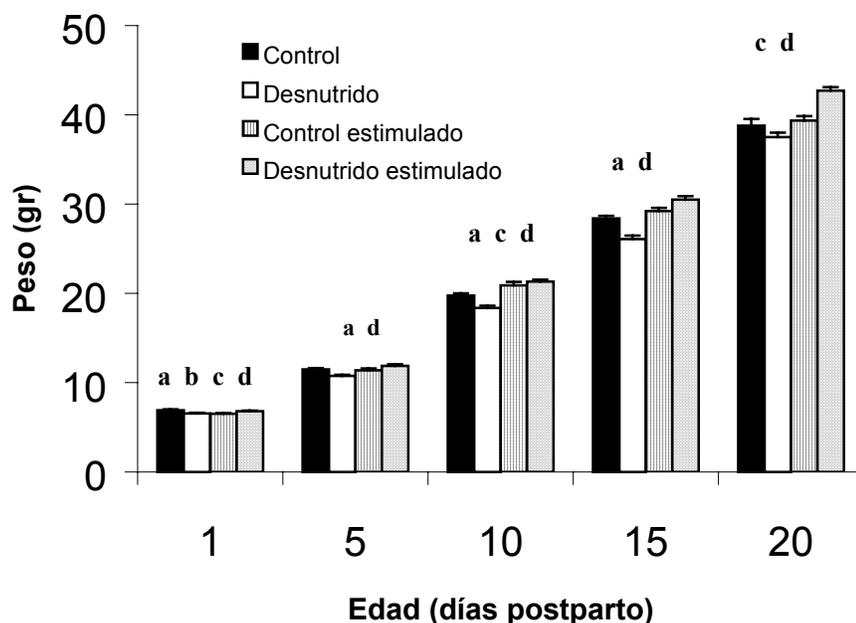


Fig. 20. Peso de crías (F1) hijas de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales durante los primeros 20 días de edad, ANOVA, $p \leq 0.01$.

El análisis estadístico mostró un efecto a largo plazo en el peso corporal de las crías, que fue significativamente diferente ($p \leq 0.01$) entre los grupos y entre las edades, siendo el grupo proveniente de madres desnutridas el que refleja un menor peso.

De igual forma hubo diferencias significativas (Tukey $p \leq 0.05$) del día 1 al 15 de edad, al comparar controles contra desnutridos, y en el día 1 de edad, al comparar control estimulado y desnutrido estimulado. Asimismo, se observaron diferencias

significativas entre los grupos control y control estimulado en los días 1, 10 y 20 de registro. Hubo diferencias significativas entre desnutrido y desnutrido estimulado a lo largo de todos los días de observación (Fig. 20).

8.2 Conducta materna

El resultado del análisis estadístico entre grupos experimentales de la conducta materna realizado a lo largo de los días del estudio, y considerando la duración, frecuencia y latencia de los distintos componentes se muestra en la Tabla 4. De igual forma, se incluye el análisis de las comparaciones entre las edades de estudio para cada uno de los componentes de la conducta materna.

Tabla 4. Comparaciones estadísticas de diferentes componentes de la conducta maternal y de las crías, bajo distintas condiciones experimentales (desnutrición y estimulación) y de la edad a lo largo de los días de estudio.

CONDUCTA MATERNAL	Condición experimental	Edad
Frecuencia de amamantamiento	H(3)=30.611 p≤0.0001*	H(4)=3.764 p≤0.439
Latencia de amamantamiento	H(3)=17.279 p≤0.001*	H(4)=2.882 p≤0.578
Duración de amamantamiento	H(3)=36.292 p≤0.0001*	H(4)=6.350 p≤0.175
Frecuencia de autolamido de la madre	H(3)=12.743 p≤0.005*	H(4)=13.727 p≤0.008*
Latencia de autolamido de la madre	H(3)=12.304 p≤0.006*	H(4)=7.843 p≤0.097
Duración de autolamido de la madre	H(3)=9.539 p≤0.023*	H(4)=17.432 p≤0.002*
Frecuencia de lamido materno	H(3)=16.516 p≤0.001*	H(4)=3.120 p≤0.538
Latencia de lamido materno	H(3)=9.480 p≤0.024*	H(4)=5.192 p≤0.268
Duración de lamido materno	H(3)=37.007 p≤0.001*	H(4)=5.606 p≤0.231
Frecuencia de emisión de vocalizaciones audibles	H(3)=14.476 p≤0.002*	H(4)=39.432 p≤0.0001*
Latencia de emisión de vocalizaciones audibles	H(3)=10.941 p≤0.012*	H(4)=15.754 p≤0.003*
Frecuencia de emisión de vocalizaciones ultrasónicas	H(3)=23.919 p≤0.0001*	H(4)=36.423 p≤0.0001*
Latencia de emisión de vocalizaciones ultrasónicas	H(3)=16.781 p≤0.001*	H(4)=22.698 p≤0.0001*

* Diferencias estadísticamente significativas, Kruskal-Wallis p≤0.05. H=Hipótesis.

8.2.1 Amamantamiento

El amamantamiento materno se evaluó a partir de las grabaciones (10 min) de la conducta maternal, durante el cual la madre permaneció con el dorso arqueado en posición de campana encima de sus crías y mostrando disposición para ser succionada. Como parte del análisis estadístico de los resultados, se comparó entre grupos experimentales por cada día de edad.

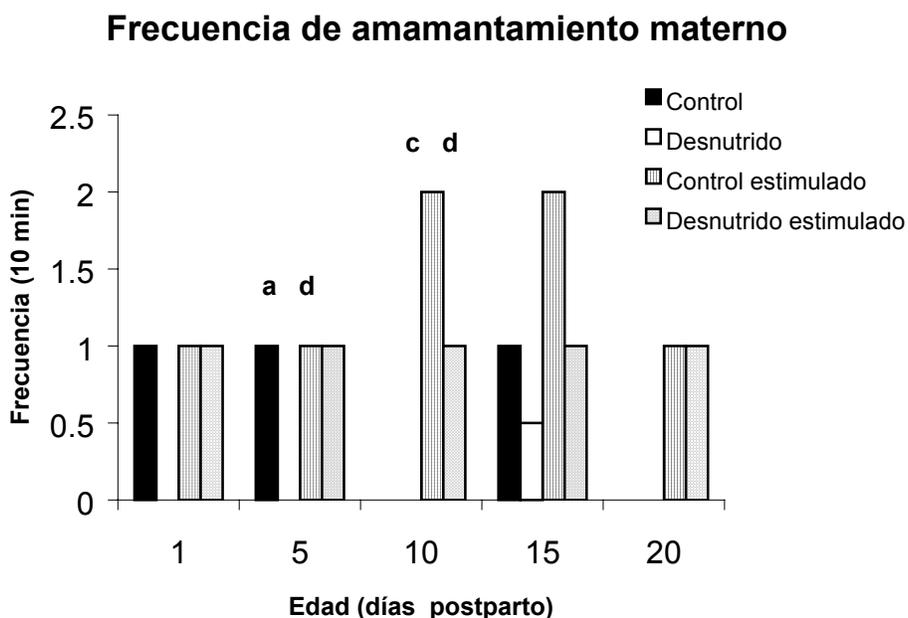


Fig. 21. Medianas de las frecuencias de amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Respecto a la frecuencia de amamantamiento, hubo diferencias significativas dentro de los grupos con una significación de $p \leq 0.01$. El grupo de madres desnutridas tuvo una menor frecuencia de amamantamiento respecto al grupo control, encontrándose diferencias significativas en el día 5 de edad en las pruebas *post hoc* (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$).

La estimulación sensorial incrementó la frecuencia de amamantamiento tanto en controles como desnutridos. Se observaron diferencias significativas entre los grupos control y control estimulado en el día 10 de observación, y entre desnutrido y desnutrido estimulado en los días 5 y 10 de edad. Respecto a los grupos estimulados se observó que el grupo control estimulado muestra una mayor frecuencia de amamantamiento de las crías respecto al grupo control en el día 10 de edad (Fig. 21). No hubo diferencias significativas entre las edades.

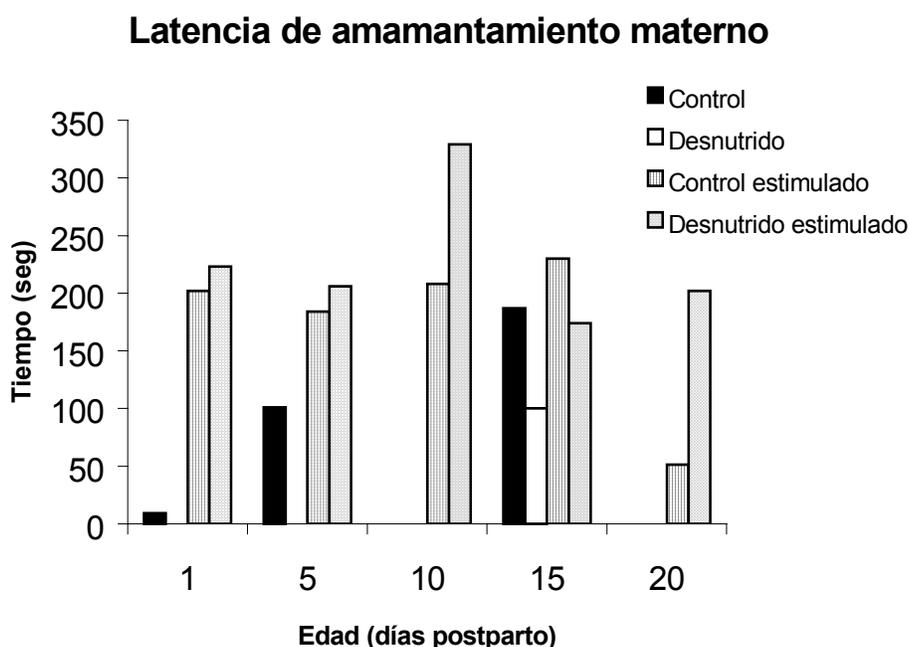


Fig. 22. Medianas de las latencias para el amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Se encontraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p \leq 0.01$) en las latencias para el amamantamiento entre los grupos experimentales. El grupo desnutrido presentó menores latencias para el amamantamiento respecto al grupo control. De igual forma, los grupos estimulados presentan un aumento en las latencias al amamantamiento respecto al grupo control, aunque no se encontraron diferencias

significativas en el análisis *post hoc* (Fig. 22). No hubo diferencias significativas entre las edades.

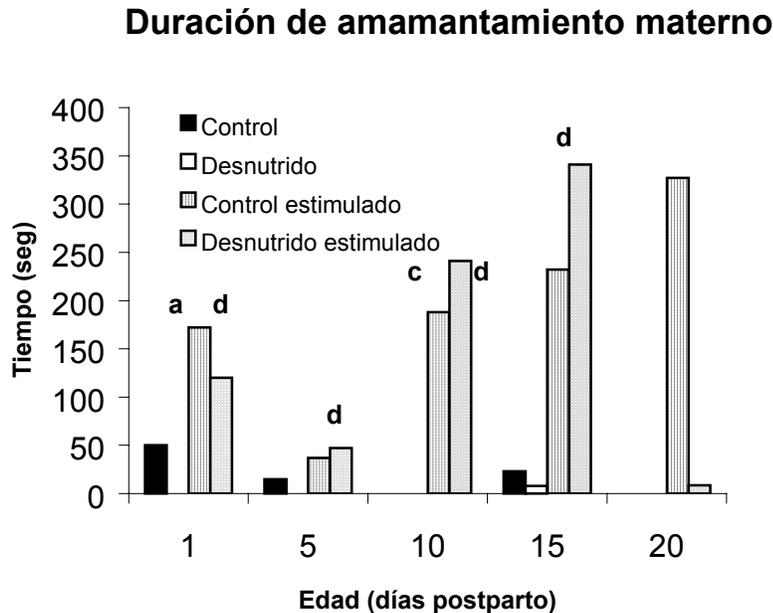


Fig. 23. Medianas de la duración del amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Las comparaciones estadísticas mostraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p \leq 0.01$) en la duración del amamantamiento entre los grupos experimentales, siendo el grupo desnutrido el que presenta menores valores de amamantamiento respecto al grupo control. De igual forma, se presentó un aumento en la duración del amamantamiento en los grupos que recibieron estimulación sensorial temprana.

Al comparar los grupos control y desnutrido, se obtuvieron diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) en el día 1 de edad. Asimismo, hubo diferencias significativas en el día 10 de edad entre los grupos control y control estimulado, y en los días 1, 5, 10 y 15 entre los grupos desnutrido y desnutrido estimulado (Fig. 23). No hubo diferencias significativas entre las edades.

8.2.2 Autolamido materno

Autolamido materno: Este componente conductual se midió a partir de las grabaciones, y correspondió al número de veces que la madre se lamió distintas partes de su cuerpo (manos, cara, cabeza, extremidades, tronco y genitales) durante los 10 minutos de registro. Parte del análisis estadístico de los resultados incluyó la comparación entre grupos experimentales por cada día de edad.

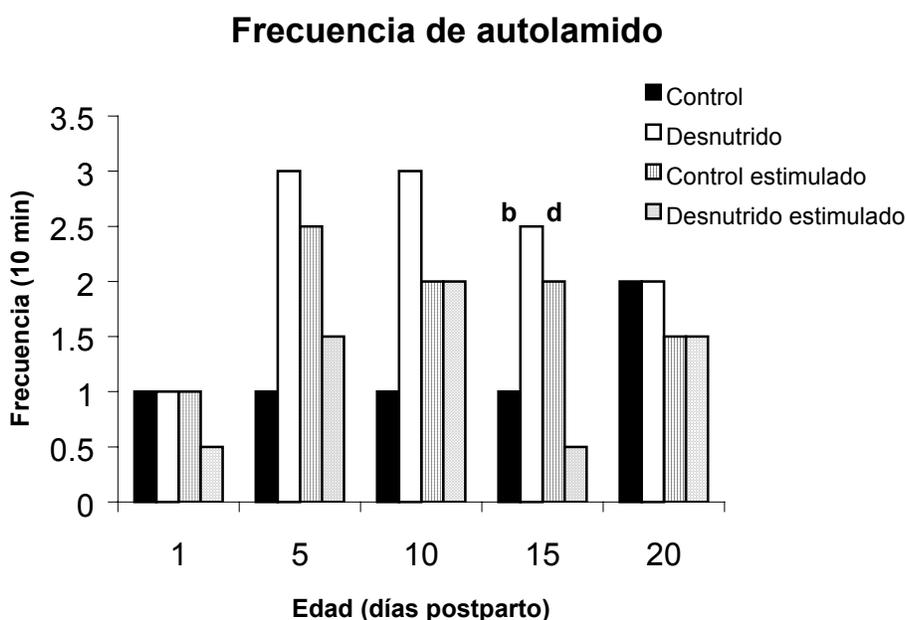


Fig. 24. Medianas de las frecuencias de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$.

Al analizar la frecuencia de autolamido de la madre hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales, con una probabilidad $p \leq 0.05$; siendo el grupo desnutrido quien tuvo mayor frecuencia. También se encontraron diferencias significativas en la comparación entre edades (ver Tabla 4). De igual forma, al aplicar la prueba de U de Mann-Whitney, como análisis *post hoc*, con una $p \leq 0.05$, se encontraron diferencias significativas entre controles estimulados y desnutridos estimulados en el día 15, al igual que entre desnutrido y desnutrido estimulado. En

general, la estimulación sensorial temprana redujo la frecuencia de autolamido en el grupo desnutrido, .

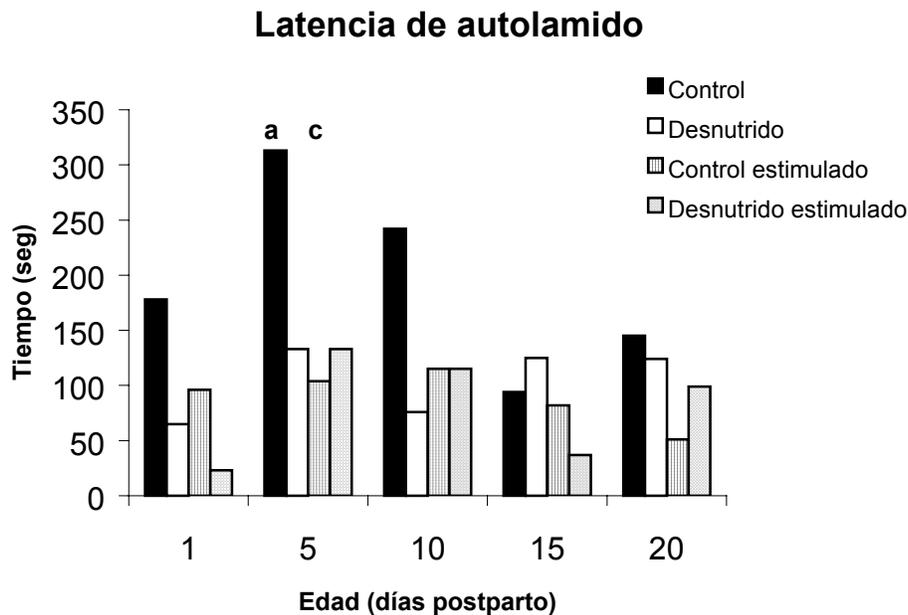


Fig. 25. Medianas de las latencias de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Se encontraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p \leq 0.01$) en las latencias de autolamido de la madre entre los grupos experimentales, teniendo el grupo control latencias más prolongadas en la mayoría de las edades. No se encontraron diferencias significativas con respecto a la edad. En el análisis *post hoc*, (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) hubo diferencias significativas entre controles y desnutridos, y entre control y control estimulado en el día 5 de edad (Fig. 25). No se observaron diferencias significativas entre los grupos estimulados.

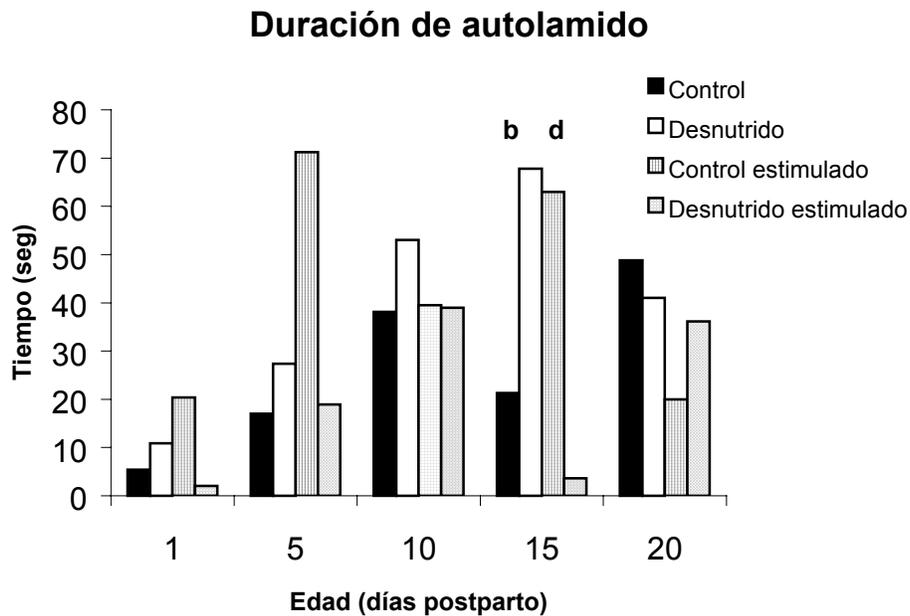


Fig. 26. Medianas de la duración de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$.

En la duración del autolamido de la madre se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales (Kruskal-Wallis $p \leq 0.05$), siendo el grupo desnutrido el que presenta un mayor tiempo. De igual forma hubo diferencias significativas al comparar entre las edades (ver Tabla 4). En el análisis *post hoc*, (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) se encontraron diferencias significativas entre control estimulado y desnutrido estimulado y entre los grupos desnutrido y desnutrido estimulado en el día 15 postparto. Particularmente, la estimulación sensorial temprana tuvo mayores efectos en el grupo desnutrido, reduciendo el tiempo de autolamido.

8.2.3 Lamido materno

Lamido materno: Esta conducta se cuantificó al observar las grabaciones de la conducta maternal, y correspondió al número de veces que la madre lamió a sus

crías en alguna región del cuerpo durante el registro de 10 minutos. Como parte del análisis estadístico de los resultados, se realizó la comparación entre grupos experimentales para cada día de edad.

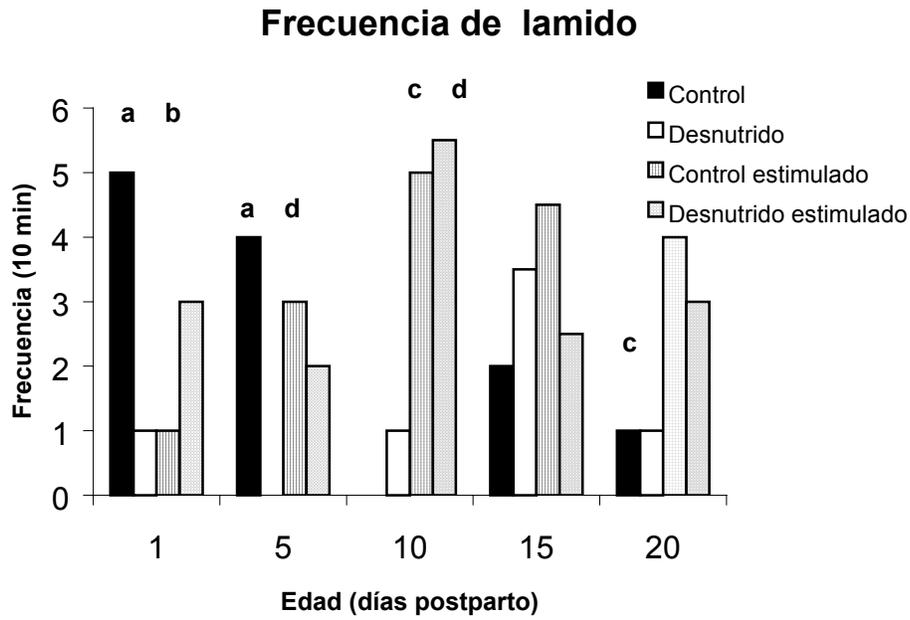


Fig. 27. Medianas de las frecuencias de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

En la frecuencia de lamido materno se encontraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$) entre los grupos, siendo el grupo desnutrido el que presenta una menor frecuencia; de igual forma, la estimulación sensorial temprana tuvo efectos en la frecuencia de lamido materno, incrementándose en los desnutridos, con efectos menos consistentes en los controles. No se encontraron diferencias significativas al comparar entre las edades. El análisis *post hoc* (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$), arrojó diferencias significativas en el día 1 y 5 de edad entre controles y desnutridos. Asimismo, hubo diferencias significativas entre los grupos control estimulado y desnutrido estimulado en el día 1 de edad; y entre los grupos control y control estimulado en los días 10 y 20 de edad. También se encontraron diferencias significativas entre desnutrido y desnutrido estimulado en los días 5 y 10 de edad (Fig. 27).

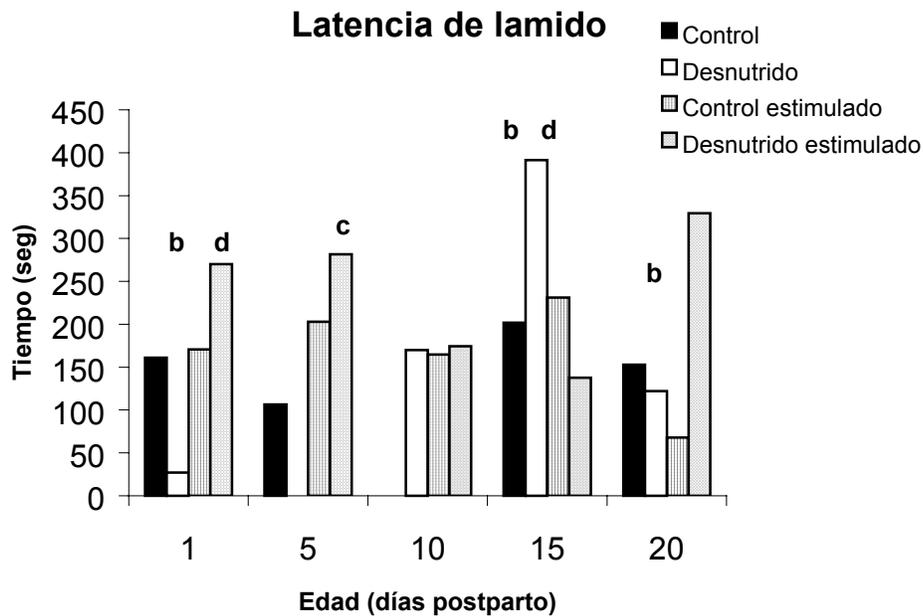


Fig. 28. Medianas de las latencias de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$.

En cuanto a las latencias de lamido materno, se observaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$) dentro de los grupos experimentales, siendo el grupo desnutrido y desnutrido estimulado los que presentan una latencia mayor. No se encontraron diferencias significativas al comparar entre las edades.

El análisis *post hoc* (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) arrojó diferencias significativas entre control estimulado y desnutrido estimulado en los días 1, 15 y 20 de registro, y entre control y control estimulado en el día 5 de edad. Asimismo, hubo diferencias significativas entre los grupos desnutrido y desnutrido estimulado en los días 1 y 15 de edad (Fig. 28).

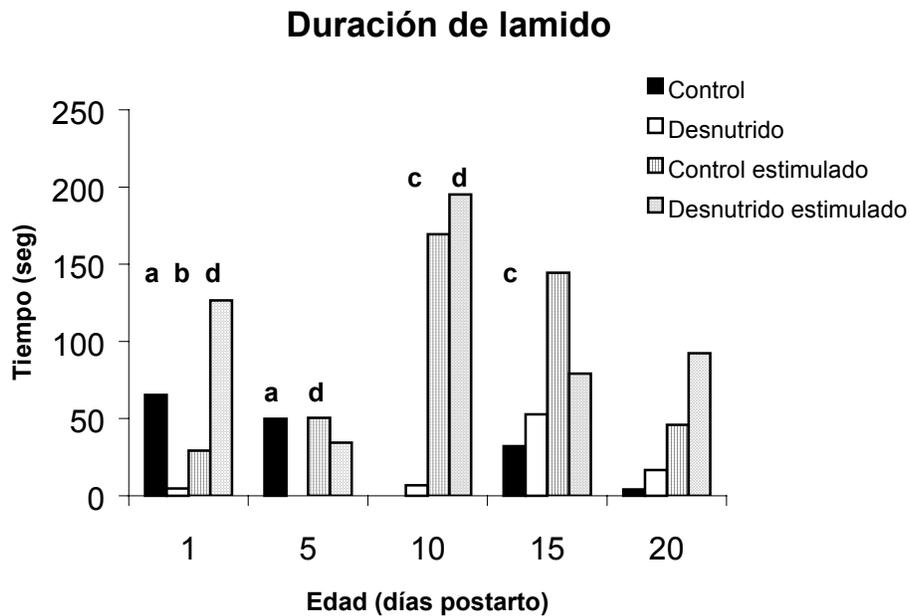


Fig. 29. Medianas de la duración de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Respecto a la duración del lamido materno, se observaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis $p \leq 0.01$) dentro de los grupos experimentales, siendo el grupo desnutrido el que presenta menor tiempo, y los grupos estimulados los que registran mayores tiempos de lamido. No se encontraron diferencias significativas al comparar entre las edades.

Hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre controles y desnutridos en los días 1 y 5 de registro, y entre estimulados en el día 1. También hubo diferencias entre control y control estimulado en los días 10 y 15 de observación y entre desnutrido y desnutrido estimulado en los días 1, 5 y 10 de edad (Fig. 29).

8.2.4 Vocalizaciones audibles

Vocalizaciones audibles: Se registró la emisión de vocalizaciones audibles de las crías F1 (2-20 Khz) durante la expresión de la conducta maternal (registro de 10 minutos). Como parte del análisis estadístico de los resultados, se comparó entre grupos experimentales por cada día de edad.

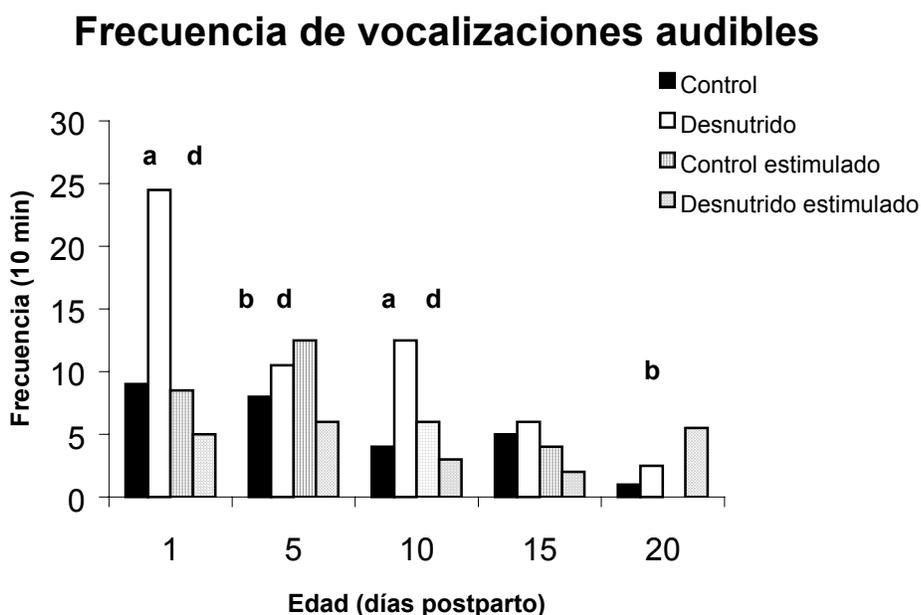


Fig. 30. Medianas de la frecuencia de emisión de vocalizaciones audibles (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Al analizar los registros de la conducta maternal, hubo diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) en la emisión de vocalizaciones audibles de las crías provenientes de camadas con diferentes tratamientos experimentales; siendo el grupo desnutrido el que presenta una mayor frecuencia de emisión. La estimulación sensorial temprana tuvo efectos en los grupos estimulados, disminuyendo el número de vocalizaciones en el grupo desnutrido, con efectos menos consistentes en el grupo control. Asimismo, hubo diferencias significativas al comparar entre las edades (ver Tabla 4), observándose una disminución en el número de vocalizaciones audibles al aumentar la edad.

De igual forma, hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney , $p \leq 0.05$) entre los grupos control y desnutrido en los días 1 y 10. Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre los grupos control estimulado y desnutrido estimulado en los días 5 y 20 de edad y entre desnutrido y desnutrido estimulado en los días 1, 5 y 10 de edad (Fig. 30).

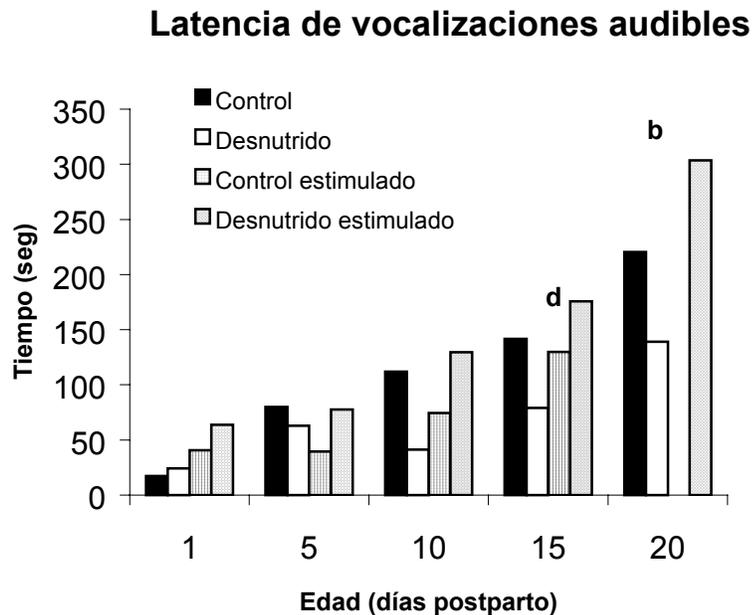


Fig. 31. Medianas de las latencias de emisión de vocalizaciones audibles (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$.

Respecto a la latencia para emitir vocalizaciones audibles, hubo diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$) entre los grupos, encontrándose, en general, mayores latencias para el grupo control y estimulados, y latencias menores para el grupo desnutrido. El análisis entre las edades también muestra diferencias significativas (ver Tabla 4), observándose en general un incremento de la latencia de emisión de vocalizaciones con respecto a la edad.

En el análisis *post hoc* hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre los grupos control estimulado y desnutrido estimulado en el día 20

de edad y entre desnutrido y desnutrido estimulado en el día 15 de observación (Fig. 31).

8.2.5 Vocalizaciones ultrasónicas

Vocalizaciones ultrasónicas: Se registró la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de las crías (20-120 Khz) durante la expresión de la conducta maternal (registro de 10 min). Como parte del análisis estadístico de los resultados, se comparó entre grupos experimentales por cada día de edad.

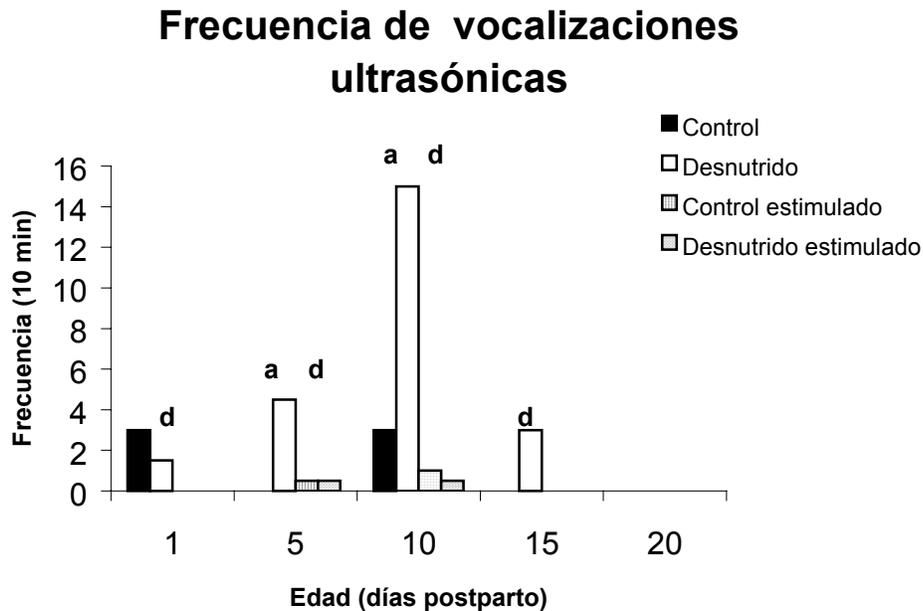


Fig. 32. Medianas de la frecuencia de emisión de vocalizaciones ultrasónicas (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

En el análisis de los registros de conducta maternal, hubo diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) en la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de las crías provenientes de camadas con diferentes tratamientos experimentales; y, al igual que la emisión de vocalizaciones audibles, el grupo desnutrido presentó una

mayor frecuencia de emisión. La estimulación sensorial temprana disminuyó la emisión de vocalizaciones ultrasónicas en controles y desnutridos. El análisis entre edades también muestra diferencias significativas (ver Tabla 4).

De igual forma, hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre controles y desnutridos en los días 5 y 10 de edad; y entre desnutrido y desnutrido estimulado durante los días 1, 5, 10 y 15 de edad (Fig. 32).

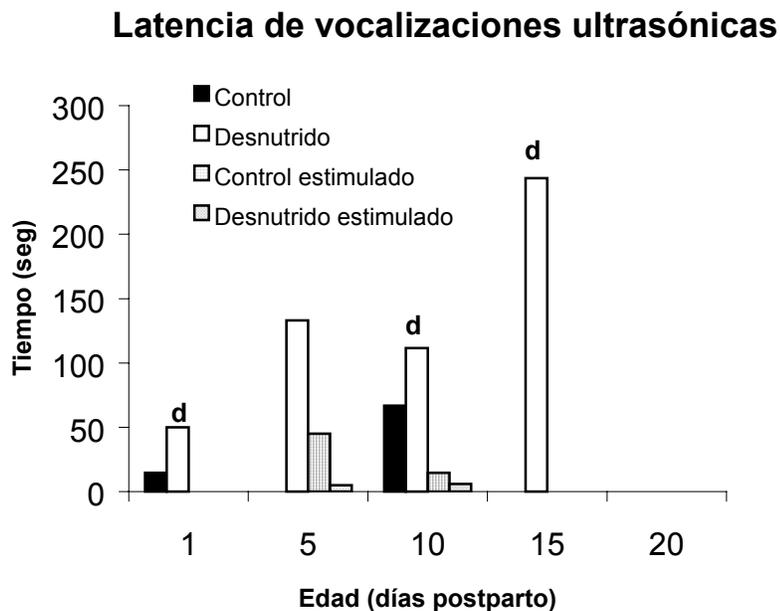


Fig. 33. Medianas de las latencias de emisión de vocalizaciones ultrasónicas (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Se encontraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) en la latencia de emisión de vocalizaciones ultrasónicas de las crías provenientes de camadas con diferentes tratamientos experimentales siendo el grupo desnutrido el que presentó una mayor latencia de emisión. De igual forma, el análisis entre edades también muestra diferencias significativas (ver Tabla 4). Hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre desnutridos y desnutridos estimulados en los días 1, 10 y 15 de edad (Fig. 33).

8.2.6 Acarreo

Acarreo: Esta conducta se definió como el tiempo que le llevó a la madre en recoger sus crías intencionalmente dispersadas. En todos los casos se dio un máximo de 180 segundos (por cría) para la ejecución del acarreo; simultáneamente se registraron las vocalizaciones audibles y ultrasónicas de las crías. El acarreo se midió durante los días 4, 8 y 12 posparto. En los días 4 y 8 de la lactancia se midieron las vocalizaciones durante el acarreo total de las crías de la camada (n=8). En el día 12 se registraron las mismas durante el acarreo a la primera de las crías.

El análisis estadístico de la conducta de acarreo incluyó la duración, frecuencia y latencia de ejecución. Asimismo, para el análisis de vocalizaciones se consideró la frecuencia y la latencia de emisión de las mismas (Tabla 5).

Tabla 5. Efectos de la condición experimental (desnutrición y estimulación) y de la edad en la conducta de acarreo.

CONDUCTA DE ACARREO	FACTORES	
	<i>Condición experimental</i>	<i>Edad</i>
Frecuencia de acarreo de las crías (días 4 y 8)	H(3)=9.603 p≤0.022*	U(1)=708.500 p≤0.254
Frecuencia de acarreo de las crías (día 12)	U(1)=36.000 p≤0.602	
Latencia de acarreo de las crías (días 4 y 8)	H(3)=9.563 p≤0.023*	U(1)=609.500 p≤0.862
Latencia de acarreo de las crías (día 12)	H(3)=0.215 p≤0.975	
Duración de acarreo de las crías (días 4 y 8)	H(3)=9.624 p≤0.022*	U(1)=691.5 p≤0.353
Duración de acarreo de las crías (día 12)	H(3)=11.829 p≤0.008*	
<i>Vocalizaciones antes del acarreo:</i>		
Frecuencia de vocalizaciones audibles (día 4 y 8)	H(3)=0.947 p≤0.814	U(1)=394.5 p≤0.002*
Frecuencia de vocalizaciones audibles (día 12)	H(3)=3.007 p≤0.390	
Frecuencia de vocalizaciones ultrasónicas (día 4 y 8)	H(3)=2.998 p≤0.392	U(1)=463.500 p≤0.064
Frecuencia de vocalizaciones ultrasónicas (día 12)	H(3)=2.180 p≤0.536	
<i>Vocalizaciones durante el acarreo:</i>		
Frecuencia de vocalizaciones audibles (día 4 y 8)	H(3)=5.505 p≤0.138	U(1)=596.500 p≤0.985
Frecuencia de vocalizaciones audibles (día 12)	H(3)=4.678 p≤0.197	
Frecuencia de vocalizaciones ultrasónicas (día 4 y 8)	H(3)=5.990 p≤0.112	U(1)=262.000 p≤0.0001*
Frecuencia de vocalizaciones ultrasónicas (día 12)	H(3)=6.186 p≤0.103	

* Diferencias estadísticamente significativas, Kruskal-Wallis p≤0.05. H=Hipótesis.

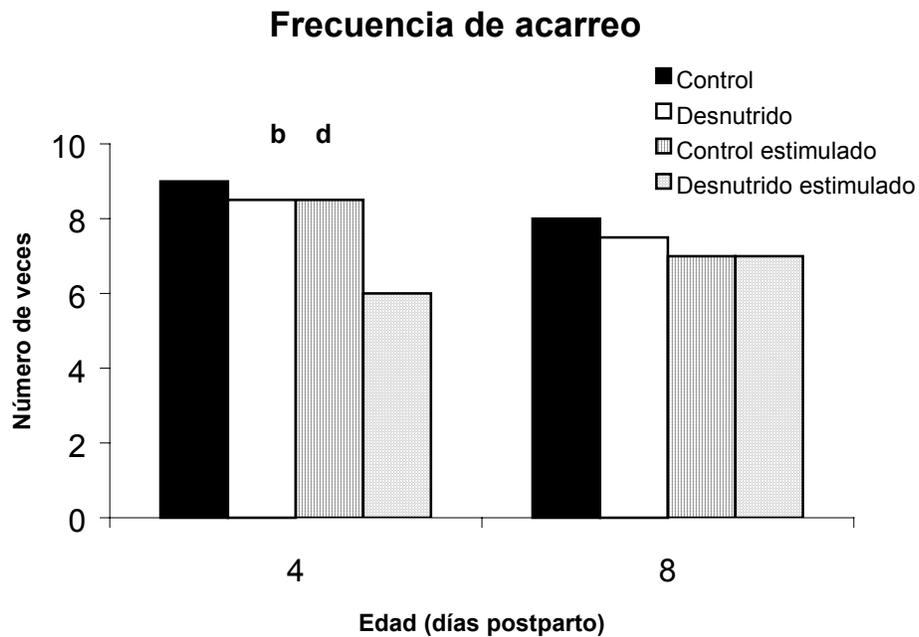


Fig. 34. Medianas de las frecuencias de acarreo de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Las comparaciones estadísticas mostraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) en la frecuencia de acarreo de las crías (días 4 y 8) de las crías provenientes de camadas con diferentes tratamientos experimentales. No se encontraron diferencias en la comparación entre edades.

De igual forma, hubo diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre los grupos control estimulado y desnutrido estimulado en el día 4 de edad; al igual que entre los desnutridos y desnutridos estimulados de la misma edad (Fig. 34).

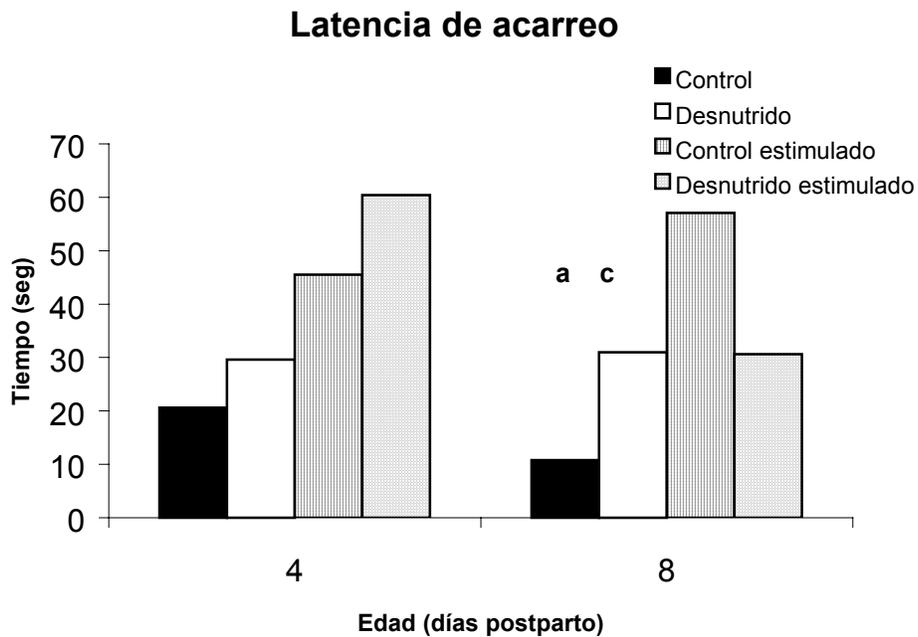


Fig. 35. Medianas de las latencias de acarreo de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

En cuanto a las latencias de acarreo de las crías (días 4 y 8), se observaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) entre los grupos, siendo el grupo control el que presenta una menor latencia de acarreo. No se encontraron diferencias en la comparación entre edades.

Asimismo, se encontraron diferencias significativas (Mann-Whitney U, $p \leq 0.05$) entre los controles y desnutridos, y entre los grupos control y control estimulado en el día 8 de edad (Fig. 35).

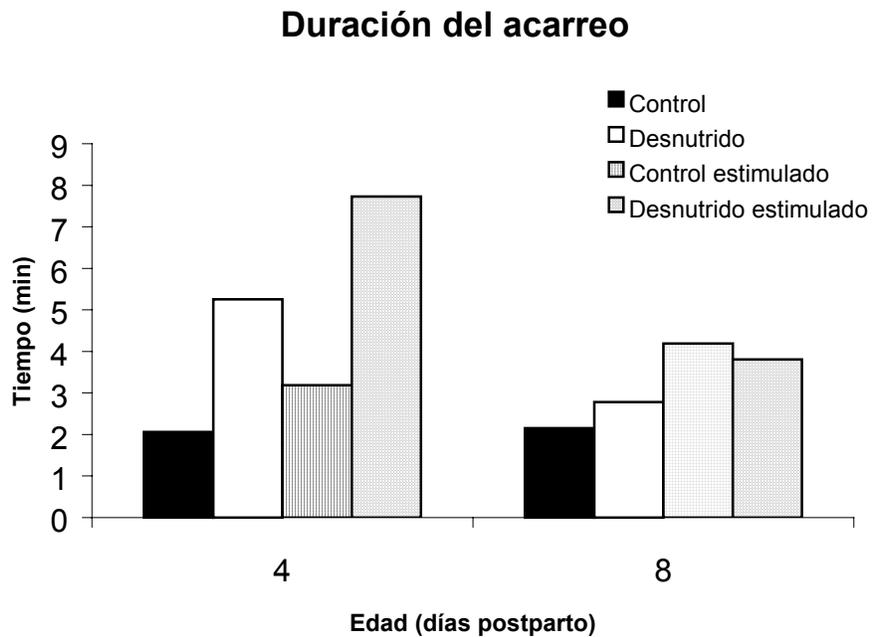


Fig. 36. Medianas de la duración del acarreo del total de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

En el análisis estadístico de los registros del acarreo de los días 4 y 8, hubo diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) entre los grupos, siendo el grupo control el que presenta menor duración. No se encontraron diferencias significativas entre las edades.

No hubo diferencias significativas en el análisis *post hoc*.

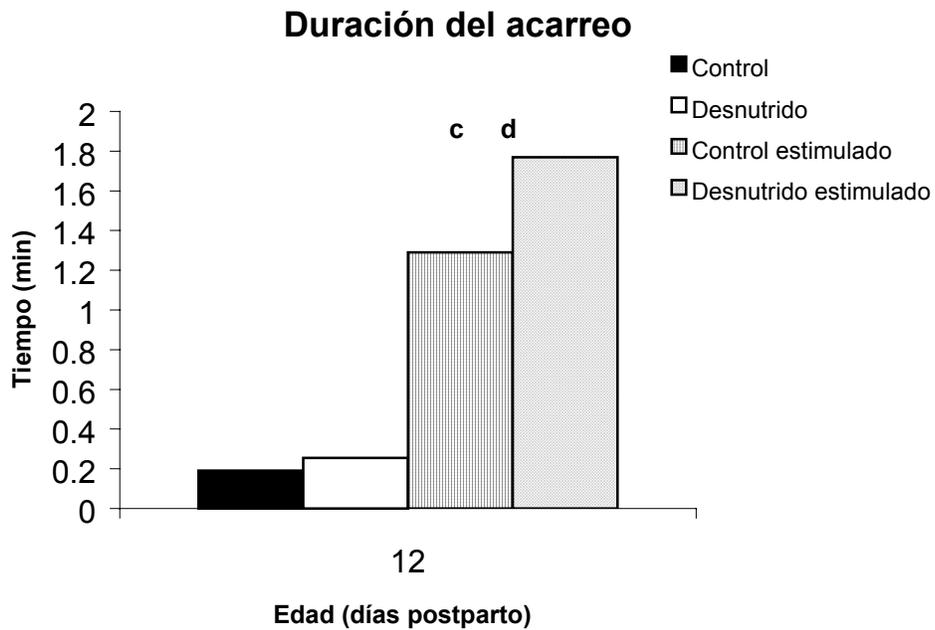


Fig. 37. Medianas de la duración del acarreo de la primera de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales, Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$.

Respecto a la duración del acarreo de las crías (día 12), se observaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.01$) entre los grupos, siendo el grupo desnutrido quien presentó un mayor tiempo, respecto al control. La estimulación sensorial temprana aumentó el tiempo de acarreo en ambos grupos.

Asimismo, se encontraron diferencias significativas (U de Mann-Whitney, $p \leq 0.05$) entre los grupos control y control estimulado, y entre desnutrido y desnutrido estimulado (Fig. 37).

9. DISCUSIÓN

Los hallazgos más significativos del presente estudio indican que la restricción neonatal de alimento por el método de separación diaria de las crías hembra por 12 h al día en una incubadora, resultaron en efectos de deterioro significativo tanto en el desarrollo físico como en la expresión de su conducta maternal durante el estado adulto (generación F0). Asimismo, que las deficiencias en la respuesta maternal de estas madres repercutieron en el desarrollo de las crías de la generación F1, alterando su crecimiento físico e incrementando significativamente la emisión de vocalizaciones audibles y de las ultrasónicas durante la expresión de la conducta maternal (Fig. 30 y 31).

El hecho de haber encontrado una reducción significativa en el peso corporal en las crías de la generación F1 en la mayoría de los días del estudio, posiblemente estuvo asociado con la deficiente atención maternal de las madres F0 bajo cuya crianza estuvieron las crías. Asimismo, estos resultados son congruentes con estudios previos que muestran alteraciones en la respuesta maternal de crías hembra privadas parcialmente de alimento en la vida temprana al colocarlas en una incubadora durante 12 h al día (Salas y col., 1984; Regalado y col., 1999; Salas y col., 2002). Los efectos consistentes de deficiencias en el desarrollo físico tanto de los sujetos experimentales de la generación F0 como los de la F1, son congruentes con experimentos anteriores, que han permitido probar la hipótesis de que el acarreo por las madres F0 desnutridas en la infancia, es brusco y mal dirigido, generando mayor emisión de vocalizaciones en las crías F1 transportadas por ellas (Salas y col., 2002). Por otra parte, estos mismos hallazgos sobre el desarrollo físico de los sujetos de las generaciones F0 y F1 nos permiten validar el método de desnutrición empleado (separación parcial diaria por 12 h del día 1- 24 de edad) para influir de manera efectiva provocando deficiencias sobre el desarrollo cerebral y sus funciones. La separación de los efectos ocasionados por la desnutrición de los de la privación de estímulos sensoriales, es difícil de lograr,

aún con los procedimientos empleados para tal fin. Los intentos relacionados con este propósito, incluyen la utilización de los siguientes paradigmas de desnutrición: se pueden ligar los conductos galactóforos a una de un par de madres lactantes, y se mantiene a las crías 12 h al día con la madre ligada y 12 h con la madre no ligada intercambiándolas diariamente, durante los primeros 24 días postnatales. De esta manera las crías restringen su ingesta de leche pero no tienen atenuada la privación sensorial materna y medio ambiental (Lynch, 1976; Pérez-Torrero y col., 2003). Asimismo, se puede restringir la ingesta de alimento de las crías, incrementando el número de las crías en la camada ($n=25$ crías), lo cual aumentaría la competencia por el acceso a las doce glándulas disponibles de la rata lactante, con la consecuente restricción de alimento a toda la camada pero con un exceso de estimulación sensorial en la misma (Crnic, 1980). Todos estos paradigmas se utilizan para producir desnutrición en las crías, y cada procedimiento podrá utilizarse de acuerdo a la solución de los problemas que se plantean.

El paradigma de desnutrición utilizado en el presente estudio fue capaz de alterar la expresión de la conducta maternal de las madres de la generación F0 que fueron desnutridas durante el periodo neonatal comparadas con sus testigos. Así, la reducción significativa en la frecuencia y duración del amamantamiento, la menor frecuencia en el lamido materno dirigido a los neonatos acompañado de excesos en la conducta no maternal de aseo y del lamido corporal durante los 10 minutos de registro a través de los días del estudio, son indicadores de una respuesta maternal alterada. Estos hallazgos están en línea con estudios previos de la conducta maternal de ratas desnutridas durante la etapa neonatal, que repercuten negativamente en el desarrollo de sus crías en la generación F1 como fue el caso de los resultados obtenidos en este estudio (Frankova, 1973; Salas y col., 1984; Regalado y col., 1999).

Asimismo, la concurrencia de restricción neonatal de alimento con la estimulación sensorial temprana aplicada a las crías hembra cuya conducta maternal se midió durante la adultez, mostró una atenuación parcial de las alteraciones en la respuesta maternal. En efecto, la duración y frecuencia del amamantamiento y del lamido dirigido hacia las crías mejoraron; de igual forma, el autolamido materno mostró reducciones en su frecuencia. Estos hallazgos indican que la estimulación sensorial temprana tuvo un efecto benéfico en términos de la atención hacia los recién nacidos, que posiblemente también influyó en su capacidad para la emisión de vocalizaciones.

Con respecto al acarreo de las crías por las madres de las diferentes condiciones experimentales, los hallazgos del estudio mostró que el acarreo fue modificado por la condición experimental. Asimismo, que hubo latencias prolongadas de acarreo en los días 4 y 8 de la lactancia, presentando el grupo D (desnutrido) mayores tiempos para prender a las crías por la piel de la nuca respecto a los sujetos del grupo C (control) (Fig. 35). Estos resultados son acordes con estudios previos realizados dentro del grupo de investigación (Salas y col., 2002) que muestran que las ratas desnutridas durante el periodo neonatal, presentan latencias más prolongadas de acarreo y frecuentemente transportan a las crías bajo condiciones de clara hostilidad debida posiblemente a su mayor emotividad materna, que genera brusquedad en la prensión con los incisivos del pliegue cutáneo de la nuca que lastima a la cría o se lleva a cabo en regiones del cuerpo con mayor sensibilidad al dolor que la región de la nuca (cabeza, pelvis, extremidades y los flancos). Estos hallazgos son acordes con observaciones no cuantificadas en este estudio, que indican que aproximadamente el 30% de las crías transportadas por madres desnutridas durante el periodo neonatal, presentaron escoriaciones de la piel o hasta francas mordeduras ocasionadas por la madre. En este contexto, la emisión de vocalizaciones audibles de las crías se incrementaría posiblemente para alertar a la madre del daño físico tal vez no relacionado con el riesgo de un depredador, sino con una sensación de aflicción o molestia provocada por el dolor (Levitsky y Barnes, 1972; Frankova, 1973; Escobar y Salas, 1987; Salas y col.,

2002). En este sentido, estudios realizados en el ratón indican que el dolor generado por el recorte quirúrgico de una falange de un dedo o parte de una pinna provoca la emisión de un gran número de vocalizaciones en los neonatos (Bell y col., 1972). Asimismo, se sabe que las madres desnutridas durante el periodo perinatal tienen una respuesta incrementada al estrés, así como una percepción visual alterada, encontrándose en éstas un aumento de la conducta de autolamido y movimientos circulares para la prensión y acarreo de la cola comparadas con sus controles (Salas y col., 1984). Por lo que, aunado a la emisión de vocalizaciones alterada de las crías, también la madre puede tener alteraciones que afecten la comunicación madre-crías e incidan en el desarrollo de estas últimas.

La medición de la frecuencia de emisión de las vocalizaciones audibles y ultrasónicas por las crías durante las pruebas de conducta maternal de 10 minutos, revelaron que las crías atendidas por las madres que fueron desnutridas y que además recibieron estimulación sensorial temprana (grupo DE), emiten menos vocalizaciones audibles y escasas ultrasónicas que las del grupo D (desnutrido) que por el contrario, se encuentran incrementadas (ver Fig. 30 y 32). En este sentido, los hallazgos sugieren una mayor vulnerabilidad a la estimulación sensorial del substrato cerebral involucrado en la emisión de las vocalizaciones ultrasónicas. En efecto, inicialmente el masaje corporal y posteriormente la exposición a un ambiente enriquecido generan un ingreso masivo de señales sensoriales que a través del sistema propioceptivo, auditivo y visual estimulan las propiedades plásticas del substrato involucrado en la respuesta al estrés e indirectamente en la emisión de vocalizaciones ultrasónicas (Fleming y col., 1999; Meaney y col., 2000; Gonzalez y col., 2001). Dentro de este estudio se plantearon dos hipótesis, la primera postulaba una reducción en la emisión de vocalizaciones de los grupos desnutridos respecto a los controles, y la segunda proponía una reducción en las vocalizaciones por parte de los grupos estimulados comparados con sus controles. Los hallazgos del presente trabajo permiten verificar la hipótesis 2, pero no la hipótesis 1, posiblemente debido al contexto medio ambiental en el

que fueron registradas las vocalizaciones y el estado motivacional de las madres del grupo D (desnutrido).

Con base en estos hallazgos, es posible especular acerca del incremento en las vocalizaciones audibles y de las ultrasónicas de las crías F1 durante la expresión de la conducta maternal de madres F0 desnutridas durante el periodo neonatal, sugiriendo que la emisión de ambos tipos de vocalizaciones por las crías F1, quizás tienen un mecanismo de emisión diferente dependiendo del contexto en que se encuentre el recién nacido. Es posible que esta respuesta de aflicción de la cría lastimada por la madre, sea similar a las producidas inespecíficamente por un sinnúmero de estímulos táctiles o dañinos como la compresión de alguna parte del cuerpo por un objeto, un choque eléctrico a las patas, el pinchazo generado por un objeto puntiagudo, la exposición corporal a un objeto caliente, o en respuesta a un estímulo doloroso (Sewell, 1968). Por otro lado, se ha establecido que la emisión de vocalizaciones audibles se provoca por un mecanismo sencillo de paso del flujo de aire espirado a su paso por la nariz y la boca, mientras que las vocalizaciones ultrasónicas requieren de un grado de desarrollo más elaborado que implica la maduración de la laringe, incluyendo las cuerdas vocales y posiblemente de un mayor grado de maduración del substrato neuronal que lo modula a través de un mecanismo de silbido que incluye las estructuras de la boca y la nariz (Elwood y col., 1983).

Por otro lado, las vocalizaciones ultrasónicas de las crías (F1) pueden interpretarse como un índice de la ansiedad generada por la separación y la falta de cuidado de la madre, ya que la función de estas vocalizaciones sería la de atraer la atención materna y provocar el cuidado materno, que, debido a la inmadurez somatosensorial de la cría, sería vital para su supervivencia. En la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de las crías están implicados diversos sistemas de neurotransmisores. Así el sistema noradrenérgico ejerce una influencia excitatoria, mientras la función inhibitoria puede atribuirse a neurotransmisores como el GABA y la dopamina, el sistema serotoninérgico

también parece estar implicado en la regulación de este tipo de vocalizaciones generando una acción permisiva para la manifestación del llanto y las vocalizaciones (Gardner, 1985; Hard y Engel, 1991; Branchi y col., 2001). Sin embargo, el estudio de las vocalizaciones ultrasónicas en la rata y sus modificaciones por distintos neurotransmisores aún es motivo de intenso estudio experimental. Con base en lo anterior es posible especular que las vocalizaciones ultrasónicas sean más resistentes al daño provocado por la restricción de alimento después de haber aplicado estimulación sensorial, por tener mecanismos de generación más elaborados que impliquen la participación de influencias sensoriales medio ambientales que participan en la maduración de la laringe, y del substrato neuronal del que depende su inervación motora. En este contexto, estas vocalizaciones serán utilizadas para la comunicación con sus congéneres a través de información codificada con significados precisos, comparadas con la emisión inespecífica de vocalizaciones audibles a estímulos dañinos que causan solo molestia o daño corporal transitorio.

Otro aspecto derivado del estudio, concierne a los efectos de atenuación significativa de la emisión de vocalizaciones tanto audibles como las ultrasónicas de las crías durante la expresión de la conducta maternal de las madres desnutridas y estimuladas durante el periodo neonatal (F0) (Fig. 30 y 32). En este sentido, la estimulación sensorial inicialmente producida por el masaje corporal y posteriormente, por la exposición a un ambiente enriquecido en objetos que inducen a los neonatos a un incremento en las señales propioceptivas de músculos, tendones, cápsulas articulares, ligamentos, de tacto, presión temperatura y vestibulares entre otros, libera factores de crecimiento que afectan el desarrollo morfológico de varias regiones del cerebro. En efecto, se sabe que el ejercicio como actividad de movimiento incrementa la capacidad metabólica y la liberación del factor de crecimiento derivado de cerebro (BDNF), del factor de crecimiento nervioso (NGF) y de la neurotrofina-3(NT3) en el área motora de la corteza cerebral, el hipocampo y el estriado (Neeper y col., 1996; Ueyama y col., 1997; Ickess y col., 2000; McCloskey y col., 2001; Adlar y Cotman, 2004).

Considerando que la estimulación sensorial utilizada en los estudios de liberación de factores tróficos antes mencionados, aunque con distintos paradigmas de estimulación (utilización de rueda giratoria, aplicación de masaje corporal, aplicación de choques eléctricos, restricción de movimiento, etc.), es similar a la aplicada en este proyecto. Entonces es factible suponer que la planeación y ejecución del movimiento en las estructuras telencefálicas (corteza cerebral, cuerpo estriado, hipocampo y cerebelo) que descienden al tallo cerebral, pudo haber influido en la maduración del mecanismo neuronal involucrado en la emisión de las vocalizaciones ultrasónicas y audibles, y así hacerlo operar en los niveles de los sujetos controles.

Otro hallazgo importante derivado del estudio, concierne a que en la rata la manipulación de las crías por medio de masaje corporal induce diferentes efectos sobre distintos mecanismos neuronales que regulan distintas conductas. Así, se sabe que cuando las ratas manipuladas neonatalmente son expuestas a pruebas de estrés por restricción de movimiento, hacen descender los niveles de la hormona corticosterona a sus niveles basales más rápido que las que no fueron manipuladas, por lo que se ha sugerido que la manipulación neonatal tiene efectos sobre el desarrollo de las funciones del eje hipotálamo-pituitaria-adrenales (HPA) sobre la corticosterona, probablemente debido a la concentración aumentada del receptor a glucocorticoides en el hipocampo (Beane, y col., 2002). Otro resultado importante obtenido en este estudio se relaciona a que en la rata, los eventos medio ambientales que posteriormente llegan a afectar la conducta maternal, pueden alterar el patrón de transmisión de las diferencias individuales en la respuesta al estrés de una generación a la siguiente. Los efectos de la variación en la expresión de la conducta maternal sobre el desarrollo de la respuesta al estrés en las crías, son mediados en parte, por cambios en los niveles de expresión de genes específicos en regiones cerebrales (expresión de mRNA del receptor de glucocorticoides en hipocampo, y del factor liberador de corticotropina en el hipotálamo) que regulan las respuestas conductuales y endocrinas al estrés (Francis, y col., 1999). En otros estudios se han encontrado efectos

intergeneracionales en la respuesta al estrés, ya sea utilizando diferentes paradigmas de estimulación, o utilizando madres que despliegan una conducta maternal rica (incremento en el lamido de las crías) (Gonzalez y col., 2001). En este sentido, nuestros resultados tendrían conexión con estos hallazgos, en el contexto de que el cuidado materno que recibieron las crías (F0) se reflejó en el desarrollo de las crías, que pudiera ser de tipo transgeneracional.

Sin embargo, será necesaria la utilización de técnicas de marcaje de actividad neuronal de áreas cerebrales que participan en la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas ante estímulos precisos y específicos (dolor, tacto, aislamiento de las crías, restricción de alimento, etc), que permitan reconocer en que magnitud se activan los diversos cúmulos neuronales, y en que áreas cerebrales se dan esos cambios para intentar indagar cómo ocurre la comunicación entre la madre y su camada en esta etapa temprana de la vida.

10. CONCLUSIONES

1. La restricción neonatal de alimento por separación parcial diaria de las crías hembra de la madre en una incubadora, provoca efectos nocivos en su desarrollo físico lo cual repercute a largo plazo en la expresión de su conducta maternal y en el desarrollo de su progenie.

2. La frecuencia de emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas por las crías F1 atendidas por las madres F0 desnutridas, se incrementó, con resultados opuestos en las crías F1 asistidas por madres desnutridas y estimuladas sensorialmente.

3. La estimulación sensorial a base de masaje y exposición a un ambiente enriquecido en estímulos sensoriales, concurrente a la restricción neonatal de alimento, atenúa parcialmente las alteraciones en la respuesta maternal y la capacidad para la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas de las crías.

4. En términos de la comunicación madre crías, la emisión de vocalizaciones audibles y ultrasónicas por las crías F1 bajo las condiciones del cuidado maternal parecen tener un significado diferente. Así, las vocalizaciones audibles podrían servir para “alertar” a la madre, mientras que las ultrasónicas para promover la comunicación fina con los congéneres.

12. REFERENCIAS

Adlar, P. A., Cotman, C. W. (2004). Voluntary exercise protects against stress-induced decreases in brain-derived neurotrophic factor protein expression. *Neurosci.*, 124: 985-992.

Allin, J. T., Banks, E. M. (1971). Effects of temperature on ultrasound production by infant albino rats. *Dev. Psychobiol.*, 4: 149-156.

Allin, J. T., Banks, E. M. (1972). Functional aspects of ultrasound production by infant albino rats (*Rattus norvegicus*). *Anim. Behav.*, 20: 175-185.

Barr, G. A., Wang, S., (1992). Tolerance and withdrawal to chronic morphine treatment in the week-old rat pup. *Eur. J. Pharmacol.*, 215: 35-42.

Beach, F. A., Jaynes, J. (1956). Studies of maternal retrieving in rats. I. Recognition of young. *J. Mammal.*, 37: 177-180.

Beane, M., Cole, M., Spencer, R., Rudy, J. (2002). Neonatal handling enhances contextual fear conditioning and alters corticosterone stress responses in young rats. *Hormon. Behav.*, 41: 33-40.

Bell, R. W., Nitschke, W., Gorry, Th H., Zachmann, T. A. (1971). Infantile stimulation and ultrasonic signaling: a possible mediator of early handling phenomena. *Dev. Psychobiol.*, 4: 181-191.

Bell, R. W., Nitschke, W., Zachman, T. A. (1972). Ultrasounds in three inbred strains of young mice. *Behav. Biol.*, 7: 805-814.

Bell, R. W. (1974). Ultrasounds in small rodents: arousal-produced and arousal-producing. *Dev. Psychobiol.*, 7: 39-42.

Blass, E. M., Fitzgerald, E. (1988). Milk-induced analgesia and comforting in 10-day-old rats: opioid mediation. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 29: 9-13.

Bradbury J., Vehrencamp S., (1998). *Principles of Animal Communication*. Sinauer Associates. Pp. 2-6.

Branchi I., Santucci D., Alleva E. (2001). Ultrasonic vocalization emitted by infant rodents: a tool for assessment of neurobehavioural development. *Behav. Brain Res.*, 125: 49-56.

Brewster, J., Leon, M. (1980). Facilitation of maternal transport by Norway rat pups. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 94: 80-88.

Brouette-Lahlou, I., Vernet-Maury, E., Vigouroux, M. (1992). Role of pups' ultrasonic calls in a particular maternal behavior in Wistar rat: pups' anogenital licking. *Behav. Brain Res.*, 50: 147-154.

Conely, L., Bell, R. W. (1978). Neonatal ultrasounds elicited by odor cues. *Dev. Psychobiol.*, 11: 193-197.

Corodimas K. P., Rosenblatt J. S., Canfield M. E., Morrell J. I. (1993). Neurons in the lateral subdivision of the habenular complex mediate the hormonal onset of maternal behavior in rats. *Behav. Neurosci.*, 107: 827-843.

Cragg, B. G. (1972). The development of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain*, 95: 143-150.

Crnic, L. S. (1980). Models of infantile malnutrition in rats: effects on maternal behavior. *Dev. Psychobiol.*, 13: 615-628.

Diaz-Cintra, S., García-Ruiz, M., Corkidi, G. Cintra, L. (1994). Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain. Res.*, 662: 117-126.

Elwood, R., Keeling F. (1982). Temporal organization of ultrasonic vocalizations in infant mice. *Dev. Psychobiol.*, 15: 221–227.

Elwood, R. (1983). Parental behaviour of rodents. John Wiley and Sons. Pp. 296.

Escobar, C., Salas, M. (1987). Ameliorating effects of early sensory stimulation on the behavior of adult rats underfed during the lactating period. *Bol. Estud. Med. Biol., Méx.*, 35: 195-202.

Escobar, C., Salas, M. (1995). Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. *Biol. Neonate.* 68: 47-54.

Fleming, A. S., O'Day, D. H., Kraemer, G. W. (1999). Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neuroci. Biobehav. Rev.*, 23: 673-685.

Francis, D., Dioro, J., Liu, D., Meaney, M. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, 286: 1155-1158.

Francis D., Meaney, M. (1999). Maternal care and the development of stress responses. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 9: 128-134.

Frankova, S. (1973). Effect of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Dev. Psychobiol.*, 6: 33-43.

Fuller, G., Wiggins, R. (1984). Brain hypomyelination during postnatal undernourishment: a comparison of proteolipid protein synthesis versus assembly into membrane. *Exp. Neurol.*, 84: 306-313.

Galef, B. G. Jr., Sherry, D. F. (1973). Mother's milk: a medium for transmission of cues reflecting the flavor of mother's diet. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 83: 374-378.

Galler J., Propert, K. (1982). Early maternal behaviors predictive of the survival of suckling rats with intergenerational malnutrition. *J. Nutr.*, 112: 332-337.

García-Ruiz M., Díaz-Cintra S., Cintra L., Corkidi G. (1993). Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Res.*, 625: 203-212.

Gardner, C. R. (1985). Inhibition of ultrasonic distress vocalizations in rat pups by chlorodiazepoxide and diazepam. *Drug Dev. Res.*, 5: 185.

González, A. T. (2003). Efectos de la desnutrición prenatal y postnatal y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo de la conducta maternal de la rata. Tesis de licenciatura. Universidad del Valle de México. Querétaro. Qro. Pp. 79.

Gonzalez A., Lovic V., Ward G., Wainwright P., Fleming A. (2001). Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Dev. Psychobiol.*, 38: 11-32.

Gonzalez-Mariscal, G., Poindron, P. (2002). Parental care in mammals: Immediate internal and sensory factors of control. En: *Hormones Brain and Behavior*. Academic Press.

Gramsbergen, A., Westerga, J. (1992). Locomotor development in undernourished rats. *Behav. Brain Res.*, 48: 57-64.

Gubernick, D. J., Alberts, J. R. (1983). Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls. *Physiol. Behav.*, 31: 593-601.

Hard, E., Engel, J. (1991). Ontogeny of ultrasonic vocalization in the rat: influence of neurochemical transmission systems, En: *Behavioral Biology Neuroendocrine axis*. Trevor Archer, Pp. 37-52.

Hofer, M. A., Shair, H. N. (1987). Isolation distress in two-week-old rats: influence of home cage, social companions, and prior experience with littermates. *Dev. Psychobiol.*, 20: 456-476.

Hofer, M. A., Shair, H. N. (1992). Ultrasonic vocalization by rat pups during recovery from deep hypothermia. *Dev. Psychobiol.*, 25: 511-528.

Hunt L. E., Smotherman W. P., Wiener S. G., Levine S. (1976). Nutritional variables and their effect on the development of ultrasonic vocalizations in rat pups. *Physiol. Behav.*, 17: 1037-1039.

Ickes, B. R., Pham, T. M., Sanders, L. A., Albeck, D. S., Mohammed, A. H., Granholm, A.Ch., (2000). Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp. Neurol.*, 164: 45-52.

Insel, T., Miller, L., Gelhard, R., Hill, J. (1988). Rat pup ultrasonic isolation calls and the benzodiazepine receptor. En: J. D. Newman (Ed.). The physiological control of mammalian vocalization. New York Press. Pp. 331-342.

Jensen, D. (1979). Sentidos especiales En: Fisiología. Editorial Interamericana. Pp. 494-504.

Kehoe, P., Blass, E. M. (1986). Opioid-mediation of separation distress in 10-day-old rats: reversal of stress with maternal stimuli. Dev. Psychobiol., 19: 385-398.

Kenny P., Turkewitz G. (1986). Effects of unusually early visual stimulation on the development of homing behavior in the rat pup. Dev. Psychobiol., 19: 57-66.

Leah, J., Allardyel, H., Cummins, H. (1985). Evoked cortical potential correlates of rearing environment in rats. Biol. Psychol., 20: 21-29.

Leblond, C. P., Nelson, W. O. (1937). Maternal behavior in hypophysectomized male and female mice. Amer. J. Physiol., 120: 167-172.

Levitsky, D. A., Barnes, R. H. (1972). Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: long-term effects. Science, 176: 68-71.

Lewis, P. D., Balász, R., Patel, A. J., Johnson, A. L. (1975). The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. Brain Res., 83: 235-247.

Lisk, R. D., Pretlow, R. A., Friedman, S. M. (1969). Hormonal stimulation necessary for elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). Anim Behav., 17: 730-737.

Loranca, A., Torrero, C., Salas, M. (1999). Development of play behavior in neonatally undernourished rats. *Physiol. Behav.*, 66: 3-10.

Lynch, A. (1976). Postnatal undernutrition: an alternative method. *Dev. Psychobiol.*, 9: 39-48.

Mayer, A. D., Freeman, N. C., Rosenblatt, J. S. (1979). Ontogeny of maternal behavior in the laboratory rat: factors underlying changes in responsiveness from 30 to 90 days. *Dev. Psychobiol.*, 12: 425-439.

McCloskey, D. P., Adamo, D. S., Anderson, B. J. (2001). Exercise increases metabolic capacity in the motor cortex and striatum, but not in the hippocampus. *Brain Res.*, 891: 168-175.

Meaney M., Diorio J., Francis D., Weaver S., Yau J., Chapman K., Seckl J. R. (2000). Postnatal handling increases the expression of cAMP-inducible transcription factors in the rat hippocampus: the effects of thyroid hormones and serotonin. *J. Neurosci.*, 20: 3926-3935.

Misanin, J. R., Hommel, M. J., Krieger, W. G. (1979). Effect of pup undernutrition on the retrieval behavior of the rat dam. *Behav. Neural. Biol.*, 1: 115-9.

Morgane, P. J., Austin-La France, R. J., Bronzino, J. D., Tonkiss, J., Galler, J. R. (1992). Malnutrition and the developing neurons system. En: *The vulnerable brain and environment risks*. R. L. Isaacson y K. F. Jensen (Eds.). Plenum Press, New York. Pp. 3-43.

Mourek, J., Himwich, W. A., Myslivecek, J., Callison, D. A. (1967). The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Res.*, 6: 241-251.

Neeper, S. A., Gomez-Pinilla, F., Choi, J., Cotman, C. W. (1996). Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.*, 726: 49-56.

Noirot, E. (1968). Ultrasounds in young rodents: Changes with age in albino rats. *Anim Behav.*, 16: 129-134.

Noirot, E., Pye, D. (1969). Sound analysis of ultrasonic distress calls of mouse pups as a function of their age. *Anim. Behav.*, 17: 340-349.

Noirot, E. (1972). Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Dev. Psychobiol.*, 5: 371-387.

Okon, E. E. (1971). The temperature relations of vocalization in infant Golden hamsters and Wistar rats. *J. Zool. Lond.*, 164: 227-237.

Oswalt, G. L., Meier, G. W. (1975). Olfactory, thermal, and tactual influences on infantile ultrasonic vocalizations in rats. *Dev. Psychobiol.*, 8: 129-135.

Padoin, M., Barros, H., Lucion, A., Cadore, L., Gomes, C. (2001). Long-lasting effects of neonatal stimulation on the behavior of rats. *Behav. Neurosci.*, 115: 1332-1340.

Pérez-Torrero E., Torrero C., Salas M. (2001). Effects of perinatal undernourishment on neuronal development of the facial motor nucleus in the rat. *Brain Res.*, 905: 54-62.

Pérez-Torrero, E., Torrero, C., Collado, P., Salas, M. (2003). A paradigm of undernourishing and neonatal rehabilitation in the newborn rat. *Nutr. Neurosci.*, 6: 113-115.

Peters, L.C. (1980). The supression of filicide in mother rats'. State University of New York at Bufalo, N.Y. Citado por: Rosenblatt, J. S., Siegel, H. I. (1983). Physiological and behavioural changes during pregnancy and parturition underlying the onset of maternal behavior in rodents En: Parental Behavior in Rodents. John Wiley & Sons LTD. Pp. 296.

Regalado, M., Torrero, C., Salas, M. (1999). Maternal responsiveness of neonatally undernourished and sensory stimulated rats: Rehabilitation of maternal behavior. *Nutr. Neurosci.*, 2: 7-18.

Rosenblatt, J. S., Lehrman, D. S. (1963). Maternal behavior of the laboratory rat. En: *Maternal Behavior in Mammals* (H. L. Rheingold, Ed.), John Wiley, New York.

Rosenblatt, J. S. (1967). Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. *Science*. 156: 1512-1514.

Rosenzweigh, M., Bennett, E. L., Diamond, M. C., Wu, S., Stage, R. W. Saffran, E. (1969). Influences on environment complexity and visual stimulation on development of occipital cortex in rat. *Brain Res.*, 14: 427-445.

Shah, A., Oxley, G., Lovic, V., Fleming, A. S. (2002). Effects of preweaning exposure to novel maternal odors on maternal responsiveness and selectivity in adulthood. *Dev Psychobiol.*, 41: 187-196.

Salas, M., Schapiro, S., Guzman-Flores, C. (1970). Development of olfactory bulb discrimination between maternal and food odors. *Physiol. Behav.*, 5: 1261-1264.

Salas, M. (1972). Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiol. Behav.*, 8: 119-122.

Salas, M., Díaz, S., Nieto, A. (1974). Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.*, 73: 139-144.

Salas, M., Torrero, C., Pulido, S. (1984). Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiol. Behav.*, 33: 273-278.

Salas, M., Pulido, S., Torrero, C., Escobar, C. (1991). Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: long-term effects. *Physiol. Behav.*, 50: 567-572.

Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., Pérez, H., Nieto, A., (1995). Mecanismos centrales de la integración acústica en la rata, en: *Neurobiología de los Sistemas Sensoriales*, UNAM. Pp. 379-402.

Salas, M., Regalado, M., Torrero, C. (2001). Recovery of long-term maternal behavioral deficiencies of neonatally underfed rats by early sensory stimulation: effects of successive parturitions. *Nutr. Neurosci.*, 4: 311-322.

Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., Perez, E. (2002). Retrieving of pups by neonatally stressed mothers. *Nutr. Neurosci.*, 5: 399-405.

Sales, G. D., Smith, J. C. (1978). Comparative studies of the ultrasonic calls of infant murid rodents. *Dev. Psychobiol.*, 11: 595-619.

Schapiro, S., Vukovich, K. (1970). Early experience effects upon cortical dendrites: a proposed model for development. *Science*.167: 292-294.

Schapiro, S., Salas, M. (1970). Behavioral response of infant rats to maternal odor. *Physiol. Behav.*, 5: 815-817.

Sewell, G. D. (1968). Ultrasound in rodents. *Nature*. 217: 682-683.

Tippens P. (1996). Física, conceptos y aplicaciones. McGraw-Hill. Pp. 493-503.

Tonkiss, J., Bonnie, K., Hudson, J., Shultz, P., Duran, P., Galler, J. (2003). Ultrasonic call characteristics of rat pups are altered following prenatal malnutrition. *Dev. Psychobiol.*, 43: 1-13.

Torrero, C., Regalado, M., Pérez, E., Loranca, M., Salas, M. (1999). Effects of neonatal undernutrition and binaural ear occlusion on neuronal development of the superior olivary complex of rats. *Biol. Neonate.* 75: 259-271.

Torrero, C., Perez, E., Regalado, M., Salas, M. (2000). Pattern of sucking movements during artificial feeding of neonatally undernourished rats. *Nutr. Neurosci.*, 3: 245-254.

Torrero, C., Regalado, M., Rubio, L., Ruiz-Marcos, A., Salas, M. (2003). Neonatal food restriction induces hypoplasia in developing facial motor neurons of rats. *Nutr. Neurosci.*, 6: 317-324.

Ueyama, T., Kawaki, Y., Nemoto, K., Sekimoto, M., Toné, S., Senba, E. (1997). Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain. *Neurosci. Res.*, 28: 103-110.

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Curso temporal (en días) de la conducta maternal durante la etapa prenatal y postnatal. Reproducida de González, 2003.	7
Fig.2. Interacción madre-cría durante la expresión de la conducta maternal.	9
Fig.3. Escala en decibeles (DB) para sonidos cotidianos. Tomada de Jensen, 1979.	14
Fig.4. Vocalizaciones ultrasónicas de una rata de 6 días de edad. La frecuencia en Khz se indica en el eje vertical y la duración (mseg) en el eje horizontal (Elwood, 1983).	17
Fig.5. Vocalizaciones audibles de una rata de 6 días de edad. La frecuencia en Khz se indica en el eje vertical y la duración (mseg) en el eje horizontal (Elwood, 1983).	17
Fig.6. Perfil ontogénico de ultrasonidos emitidos por infantes de ratón en aislamiento (Elwood y Keeling, 1982).	19
Fig.7. Procedimiento, obtención y distribución de sujetos experimentales.	29
Fig.8. Condiciones de bioterio para las maniobras experimentales (a la derecha incubadora donde se colocó a las crías durante el proceso de desnutrición).	30
Fig.9. Desnutrición de las crías hembra a las que se analizó su conducta maternal en la etapa adulta (Método de separación diaria).	31
Fig.10. Grupos experimentales utilizados en el estudio.	32

Fig.11. Báscula digital para el peso de las crías. _____	33
Fig.12. Aplicación de masaje en ratas como medio de estimulación. _____	34
Fig.13. Ejemplo de un medio ambiente enriquecido durante la estimulación sensorial. _____	35
Fig.14. Ejemplo de un medio ambiente enriquecido durante la estimulación sensorial. _____	35
Fig.15. Amamantamiento de las crías. _____	37
Fig.16. Lamido de la madre hacia las crías. _____	38
Fig.17. Acarreo de las crías. _____	38
Fig.18. Mini-3 Bat Detector empleado en el registro de vocalizaciones ultrasónicas. _____	39
Fig.19. Peso de madres (F0) sometidas a diferentes condiciones experimentales durante los días 1 al 30 de edad. _____	42
Fig.20. Peso de crías (F1) hijas de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales durante los días 1 al 20 de edad. _____	43
Fig.21. Medianas de las frecuencias de amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____	46

Fig.22. Medianas de las latencias para el amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 47

Fig.23. Medianas de la duración del amamantamiento materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 48

Fig.24. Medianas de las frecuencias de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 49

Fig.25. Medianas de las latencias de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 50

Fig.26. Medianas de la duración de autolamido materno durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 51

Fig.27. Medianas de las frecuencias de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 52

Fig.28. Medianas de las latencias de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 53

Fig.29. Medianas de la duración de lamido materno dirigido a las crías durante el registro (10 min) de la conducta maternal, en ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 54

Fig.30. Medianas de las frecuencia de emisión de vocalizaciones audibles (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal. _____ 55

Fig.31. Medianas de las latencias de emisión de vocalizaciones audibles (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal. _____ 56

Fig.32. Medianas de la frecuencia de emisión de vocalizaciones ultrasónicas (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal. _____ 57

Fig.33. Medianas de las latencias de emisión de vocalizaciones ultrasónicas (de crías provenientes de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales) durante el registro (10 min) de la conducta maternal. _____ 58

Fig.34. Medianas de las frecuencias de acarreo de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 61

Fig.35. Medianas de las latencias de acarreo de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 62

Fig.36. Medianas de la duración del acarreo del total de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 63

Fig.37. Medianas de la duración del acarreo de la primera de las crías de ratas sometidas a diferentes condiciones experimentales. _____ 64

Tabla 1. Estudios sobre vocalizaciones de la rata en desarrollo. _____ 18

Tabla 2. Parámetros de vocalizaciones ultrasónicas de ratas infantas en desarrollo. _____ 19

Tabla 3. Efectos de la condición experimental (desnutrición y estimulación) y de la edad en el peso corporal. _____ 41

Tabla 4. Comparaciones estadísticas de diferentes componentes de la conducta maternal y de las crías, bajo distintas condiciones experimentales (desnutrición y estimulación) y de la edad a lo largo de los días de estudio. _____ 45

Tabla 5. Efectos de la condición experimental (desnutrición y estimulación) y de la edad en la conducta de acarreo. _____ 60