



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**EFFECTO DE LA CASTRACIÓN EN LA CONDUCTA PATERNA
DEL RATÓN DE LOS VOLCANES *Neotomodon alstoni*.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

PRESENTA:

CYNTHIA PAOLA CADENA RAMÍREZ

Directora de Tesis:

Dra. Juana Alba Luis Díaz.



Los Reyes Iztacala, marzo del 2010.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Agradecimientos

A la Dra. Juanita, por ser más que mi directora de tesis. Por ser más que un apoyo, por estar ahí siempre. Y por querer tanto a sus alumnos. Gracias por TODO.

Al Dr. Raúl Cueva del Castillo por todos los consejos, clases y revisiones.

A mis sinodales: la M. en C. Carmen Alvarez Rodríguez, al M. en C. Martín Martínez Torres y al M. en C. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez. Gracias por permitirme conocerlos y aprender algo de ustedes.

Al M. Agustín Carmona por ayudarme en la metodología y recibirme en el Bioterio de C.U.

A la M. en C. Ma. de los Angeles Granados Silvestre del Hospital Juárez por la realización de la técnica del RIA.

A todos mis compañeros del laboratorio: Guillermo, Judith, Ana Lilia, Adriana, Yaneli, Natalia, Javier y Adrian. Que con ellos compartí, enseñé, conviví, pero sobre todo: aprendí.

A mis profesores y compañeros de la carrera, por ser parte de mi formación profesional.

A mi familia, porque aunque a veces no entiendan de lo que hablo siempre estuvieron ahí para apoyarme. Gracias mamá, por todo lo que me has dado, eres única y estoy feliz de ser tu hija. Gracias Jorge por ser mi hermanito y quererme tanto. Gracias papá por enseñarme a nunca rendirme a pesar de todos los obstáculos. Esta tesis es para ti.

A la familia Limón, Eli, Ricardo, Jessy y Jorge. Por interesarse y apoyarme en todo lo que hago. Gracias por todo.

A Jorge, gracias por ayudarme a lo largo de mi carrera, no sólo en lo académico sino también a nivel personal; por ser un amigo que siempre está ahí. Gracias por ser tú. Siempre juntos.



A mis amigos, mi segunda familia. A Celes, Gigio, Kiyomi, Roy, Gaby, Jess, Eddy, Saúl, Paloma, Dany, Jerry, Pecas, Yona, Wera, España, Laura, Mónica, Marisol y los demás que me faltan pero no se olvidan. Gracias por compartir tantas cosas conmigo.

A esta gran casa de estudios, la UNAM y a una de sus hijas la FES Iztacala, por dejarme ser un puma. Orgullosamente UNAM.

Y sobre todo al ratón de los Volcanes, por ser tan interesante y por permitirme darlos a conocer.

Este proyecto fue financiado por PAPCA 2008-2009.

"En este lugar perdemos demasiado tiempo mirando hacia atrás. Camina hacia el futuro, abriendo nuevas puertas y probando cosas nuevas, se curioso... porque nuestra curiosidad siempre nos conduce por nuevos caminos."

Walt Disney.

"La ciencia más útil es aquella cuyo fruto es el más comunicable."

Leonardo Da Vinci



INDICE

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
Evolución de la conducta paterna	9
Factores sensoriales que regulan la conducta paterna	10
Bases neurales	11
Bases hormonales	14
Prolactina	14
Oxitocina	16
Vasopresina	17
Progesterona	18
Testosterona	19
Características de la especie	21
Hábitat	22
ANTECEDENTES	23
HIPOTESIS	24
OBJETIVOS	25
MATERIAL Y MÉTODOS	26
Captura de organismos	26
Mantenimiento de los animales	26
Selección de los animales de estudio	27
Pruebas de Conducta Paterna	27
Orquidectomías	28
Implantes de Testosterona	29
Niveles Plasmáticos de Testosterona	30
RESULTADOS	31



DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	38
LITERATURA CITADA	39
Apéndice I	46
Apéndice II	47

RESUMEN

La conducta paterna en los roedores es regulada por varias hormonas, entre ellas la testosterona. En el ratón de California (*Peromyscus californicus*) la testosterona es necesaria para la exhibición de la conducta paterna. En este roedor la castración redujo los cuidados paternos, mientras que el reemplazamiento con testosterona incrementó su frecuencia. El macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*, exhibe cuidados paternos, participando más que la hembra en el abrigo, acicalamiento y olfateo de las crías. Durante la lactancia, la concentración de testosterona, en el macho de este roedor, se mantiene en un nivel similar a la del apareamiento. Durante este periodo el macho participa en el cuidado de las crías. Como los niveles de testosterona no disminuyen cuando el macho proporciona cuidados a sus crías, cabe hipotetizar que esta hormona, como ocurre en el ratón de California, podría estar implicada en la regulación de la de la conducta paterna de este roedor. En el presente estudio se analizó el efecto de la castración y el reemplazamiento de testosterona en la conducta paterna del ratón de los volcanes. Se utilizaron 30 ratones machos castos con una edad entre 250 y 300 días. Estos ratones fueron seleccionados, a través de pruebas de conducta paterna, por mostrar agresividad o indiferencia hacia las crías. Los animales seleccionados fueron organizados en tres grupos: los ratones del Grupo 1, fueron castrados bilateralmente; a los Grupo 2 se les realizó una castración simulada y se les colocaron implantes vacíos; los ratones del Grupo 3 fueron castrados bilateralmente y se les colocaron implantes de testosterona. Después de cada tratamiento los ratones de los tres grupos fueron sometidos nuevamente a pruebas de conducta paterna. Antes y después de cada tratamiento se extrajeron muestras sanguíneas por vía retrorbital para determinar los niveles de testosterona, la cual fue cuantificada por la técnica de RIA. Sólo los ratones del Grupo 3 (54.55%) exhibieron conducta paterna. Los niveles de testosterona de los ratones de este grupo fueron significativamente más altos que los de los ratones de los otros grupos. Estos resultados sugieren que la testosterona puede estar implicada en la regulación de la conducta paterna del ratón de los Volcanes. Sin embargo, deben ser tomados con reservas por el tamaño de muestra y las variaciones registradas en los niveles de testosterona.

Palabras clave: Conducta paterna, testosterona, *Neotomodon alstoni*.

INTRODUCCIÓN

En los mamíferos los cuidados paternos no son comunes, debido a que en las hembras han evolucionado estructuras morfológicas, fisiológicas y conductuales, que las adecuaron para alimentar y cuidar a su progenie (Maier, 2001). Estos factores contribuyen a la deserción del macho de la pareja, no obstante, el macho participa en el cuidado de las crías en el 5% de los géneros de los mamíferos. La conducta paterna ha sido observada en algunos primates, carnívoros, perisodáctilos y roedores (Kleinman y Malcom, 1981).

En los roedores, la presencia de cuidados paternos está asociada con el sistema de apareamiento y la organización social; se ha observado que estos cuidados se correlacionan con la probabilidad de la paternidad, por lo que la conducta paterna es más común en los roedores monógamos que en los promiscuos (Kleinman y Malcom, 1981).

La presencia de cuidados paternos ha sido observada en varias especies de roedores como el ratón de California (*Peromyscus californicus*), el hámster enano (*Phodopus campbelli*), el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*), el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*), entre otros.

En los roedores los cuidados paternos se clasifican en directos e indirectos; en los primeros, las actividades del macho tienen un efecto inmediato sobre las crías. Se consideran cuidados directos el acicalamiento, abrigo, olfateo, recuperación de las crías y sociabilización. En los cuidados indirectos las acciones del macho benefician a la hembra, reduciendo su gasto energético o incrementando su oportunidad de sobrevivir. Son cuidados indirectos la construcción y mantenimiento del nido, provisión de alimento y vigilancia del nido (Cuadro 1; Kleinman y Malcom, 1981; Elwood, 1983; Gubernick y Teferi, 2000).

Cuadro 1. Actividades que integran la conducta paterna en los roedores (según Elwood, 1983).

	Comportamiento	Descripción
Cuidados Directos	Acicalamiento	El macho colabora en la limpieza de las crías y elimina los desechos de las mismas.
	Abrigo	El macho reduce la pérdida de calor y protege a las crías del torpor.
	Olfateo	El macho reconoce a las crías por medio del olfateo.
	Recuperación al nido	El macho recupera las crías de vuelta al nido.
Cuidados Indirectos	Construcción y mantenimiento del nido	El macho construye o asiste en la construcción de madrigueras, zonas de anidación y nidos, así como en su mantenimiento, ya que incrementan la sobrevivencia de la progenie.
	Sociabilización	El macho asiste a las crías en la exploración de su ambiente físico y social.
	Provisión de alimento	El macho almacena alimento que es consumido por la hembra durante la lactancia. Asimismo, este alimento también puede ser consumido por las crías después del destete.
	Vigilancia del nido	El macho alerta a la hembra y a las crías de la presencia de los depredadores.

Evolución de la conducta paterna

La conducta paterna evolucionó como una respuesta a las condiciones ecológicas locales mediante la cual se maximiza el éxito reproductivo. La presencia del macho durante la lactancia incrementa la posibilidad de sobrevivencia y el crecimiento de las crías (Clutton-Brock, 1991; Cantoni y Brown, 1997; Luis *et al.*, 2000; Wynne-Edwards y Timonin, 2007).

Kleinman y Malcom (1981) definen la inversión paterna como cualquier inversión del macho que incrementa la posibilidad de supervivencia de la progenie con el costo de la habilidad paterna de invertir en otra camada.

Sin embargo, la disponibilidad de hembras, adquisición de alimento, defensa de recursos, evadir depredadores y condiciones ambientales extremas son algunas razones por las cuales el macho permanece con la hembra después del apareamiento (Elwood, 1983).

Asimismo, la vida en un grupo permanente pudo fomentar la evolución del cuidado paterno. Por ejemplo, la inversión indirecta del macho, particularmente las llamadas de alarma y aviso de los depredadores, son comunes en especies que viven en grupos grandes. Pero los cuidados paternos más directos se caracterizan en grupos más pequeños que casi siempre están compuestos de individuos genéticamente relacionados (Kleinman y Malcom, 1981).

La conducta paterna y la materna están reguladas por factores neurales, endocrinos y sensoriales; sin embargo las investigaciones de estos factores en la regulación de la conducta paterna son muy escasas.

Factores sensoriales que regulan la conducta paterna

En las hembras de los mamíferos el olfato juega un papel clave en la regulación de la conducta materna; se ha demostrado que en hembras no preñadas los estímulos olfativos provenientes de las crías no tienen ningún efecto, mientras que en el momento del parto, la madre desarrolla sensibilidad hacia estos estímulos, los cuales son determinantes para cambiar la conducta hacia las crías, de la indiferencia a los cuidados maternos (Levy, *et al.*, 2004).

La importancia que tienen los estímulos olfativos en el mantenimiento de la conducta materna no puede ser generalizada a todas las especies; en las ratas y conejos el olfato no es necesario, en tanto que, en ovejas y ratones es esencial, al menos, en madres sin experiencia materna (Levy, *et al.*, 2004).

En el caso de los machos, se ha observado que la presencia de la hembra o de las crías es necesaria para regular o mantener la conducta paterna. Sin embargo, en algunas ocasiones las crías son atacadas y devoradas aún en las especies que exhiben cuidados paternos. Los machos deben establecer esta conducta, ya que parece que hay una adaptación para evitar los cuidados paternos a crías ajenas. Aunque, se menciona que la exposición a la hembra preñada puede ser clave para el mantenimiento de la conducta paterna, debido a que ciertos estímulos químicos inhiben el infanticidio y mantienen esta conducta (Elwood, 1983).

No obstante, Gubernick y Laskin (1994) refieren que los machos castos del ratón de California que atacan o ignoran a las crías se vuelven paternos después de copular con la hembra o del nacimiento de sus propias crías, pero los mecanismos hormonales y neuronales de esta transición aún se desconocen.

En el macho del ratón de California se ha demostrado que la experiencia con la primera camada, incrementa la probabilidad de mostrar conducta paterna hacia una

cría ajena. Esto sugiere que el macho sufre una transición en sus respuestas conductuales hacia las crías, como consecuencia de la experiencia reproductiva (Jong *et al.*, 2009).

Por otra parte, las señales de la hembra preñada son importantes para la conducta paterna en el ratón de California y el ratón de la pradera (*Microtus ochrogaster*), debido a que reciben estímulos de su pareja que influyen en su comportamiento. No obstante, en el hámster enano, en el cautiverio, estos estímulos maternos no son necesarios, para que los machos proporcionen cuidados a sus crías, pero en condiciones naturales podrían ser importantes (Wynne-Edwards, 2001).

Bases neurales

En roedores con cuidados bipaternos, como el ratón de California, se ha estudiado la neurobiología de la conducta materna y paterna, demostrándose que existen regiones en el cerebro que juegan un papel importante en la expresión de estas conductas. Una de ellas es el área preóptica media (MPOA por sus siglas en inglés), ubicada en el hipotálamo rostral, la cual es esencial para el establecimiento y mantenimiento de la conducta materna en las ratas. Se ha observado que lesiones eléctricas o cortes en esta área, alteran la exhibición de la conducta materna en este roedor (González, 2005; Numan y Stolzenberg, 2009).

Lee y Brown (2007) demostraron que la MPOA es importante para el mantenimiento de la conducta materna y paterna en el ratón de California, sus resultados fueron consistentes con el establecimiento y mantenimiento de esta conducta en las ratas. Las hembras con lesiones en el MPOA invirtieron menos tiempo en los cuidados maternos en comparación con las hembras con lesiones simuladas. Mientras que en los machos lesiones en la MPOA causaron una disminución de los cuidados paternos.

Se menciona que los machos del ratón de California sufren una transición para el establecimiento de la conducta paterna, y se sugiere que el MPOA está involucrada, debido a que uno de sus núcleos se activa, (por aumento en la actividad de la *c-fos*) en respuesta a los estímulos emitidos por una cría ajena (Jong, *et al.*, 2009).

Otra área cerebral que también participa en la exhibición de la conducta paterna y materna es la amígdala, un conjunto de neuronas ubicadas en los lóbulos temporales. Esta zona ha sido implicada en las funciones de memoria y aprendizaje y en particular la amígdala basolateral (BA) que participa en el aprendizaje emocional. Por otra parte, se ha observado que las lesiones eléctricas en esta zona alteran la conducta materna y reducen la motivación materna en las ratas. Las lesiones en la BA incrementan la latencia de recuperación de las crías en machos y hembras del ratón de California. Así mismo, sólo los machos con lesiones en la BA mostraron una reducción significativa en el acicalamiento de las crías. Estos resultados sugieren que lesiones en la BA producen más alteraciones en la conducta de los machos que en las hembras de este ratón; por lo que la BA se considera que es importante para el mantenimiento de la conducta paterna, pero no así en la conducta materna (Lee y Brown, 2007).

Se ha señalado que el núcleo *accumbens* (NA) juega una función importante en la expresión de la conducta materna; ya que la expresión de *c-fos* se incrementa en este núcleo, cuando exhiben esta conducta (Stack, *et al.* 2002).

Sin embargo, Lee y Brown (2007) reportaron que el NA no juega ningún papel en el mantenimiento de la conducta materna y paterna en el ratón de California; los machos y hembras con lesiones en el NA, no presentaron diferencias significativas en el tiempo invertido en los cuidados paternos y maternos, en comparación con los individuos control, con lesiones simuladas.

En el género *Microtus*, compuesto por especies de ratones promiscuos y monógamos, se han estudiado los receptores arginina-vasopresina (AVP) en el septo lateral (LS), se

han realizado comparaciones de la densidad y distribución de receptores de AVP en ratones polígamos (*Microtus pennsylvanicus*) y monógamos (*Microtus ochrogaster*), observándose que los machos polígamos, sin experiencia sexual tienen una mayor densidad de AVP en el núcleo de la *estria terminalis* y la amígdala media que los monógamos. Estos pequeños cambios en la densidad de AVP después del apareamiento sugieren que pueden estar implicadas en la conducta paterna (Young, *et al.*, 1997).

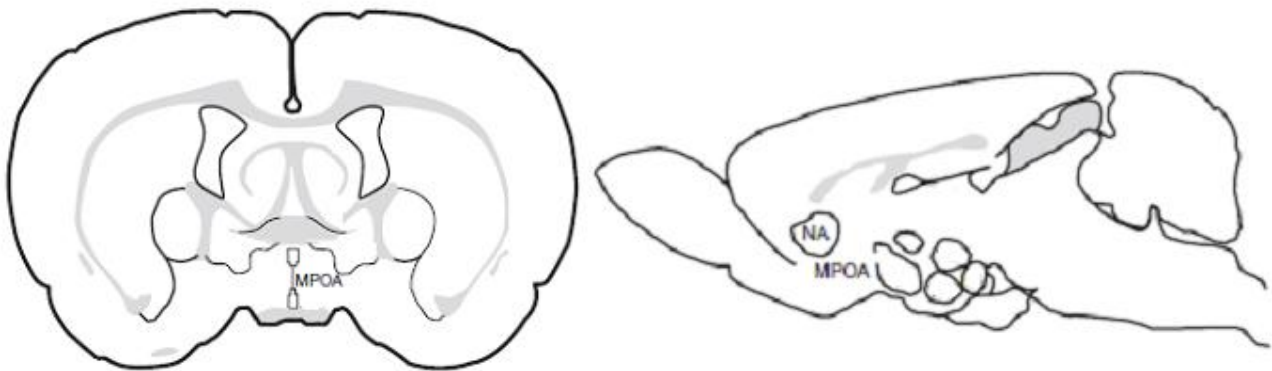


Figura1. Ubicación de la MPOA y el NA en la sección frontal y sagital del cerebro de rata (Tomado de Knobil and Neills, 2006).

Bases hormonales

En los machos de los roedores con cuidados paternos ocurren cambios hormonales que no han sido observados en los machos de especies con cuidados unipaternos. Estos cambios involucran principalmente a hormonas como la prolactina, la testosterona y la progesterona. Otras hormonas como la oxitocina y la vasopresina también han sido relacionadas con la regulación de la conducta paterna (Brown, 1985).

Prolactina

Esta hormona polipeptídica es sintetizada en la adenohipófisis, cuya secreción es regulada por el hipotálamo, el cual ejerce un efecto inhibitorio mediante la producción de dopamina, principalmente. En las hembras la prolactina estimula el desarrollo de la glándula mamaria y la lactancia. En los machos estimula funciones testiculares a través del incremento de receptores de LH y FSH en las células de Leydig y de Sertoli, respectivamente. Sin embargo, niveles altos de esta hormona ocasionan disminución en la producción de testosterona y en la espermatogénesis (Greenspan y Gardner, 2005; Jara, 2001).

La producción y liberación de la prolactina son reguladas por hormonas como el estradiol, la oxitocina y la vasopresina, que están implicadas en el control de los cuidados paternos. La administración de vasopresina vía hipotálamo antes del nacimiento facilita el establecimiento de la conducta materna (Wynne-Edwards y Reburn, 2000).

La presencia de cuidados paterno en varias especies de roedores ha sido correlacionada con concentraciones periféricas altas de prolactina; en el ratón de California los niveles de prolactina en plasma son más elevados en los machos que

exhiben cuidados paternos que en los castos y los que están apareados (Gubernick y Nelson, 1989). En los machos del primate cabeza de algodón (*Saguinus oedipus*) con experiencia paterna los niveles de prolactina se mantienen elevados, incluso cuando son removidas las crías (Ziegler y Snowdon, 2001).

En el hámster enano cuando la secreción de prolactina es inhibida durante los últimos 3 días anteriores al nacimiento de sus crías, el macho no muestra conducta paterna durante el parto. Además, a los 3 días siguientes, aún cuando las concentraciones de prolactina se han recuperado, el nivel de cuidados paternos que exhiben es menor. Contrariamente cuando la secreción de prolactina es inhibida en el día de nacimiento y las crías son retiradas del nido durante 3 días, la conducta paterna no es afectada (Jones, 2000). Los resultados de estos estudios sugieren que la prolactina puede estar implicada en la regulación de la conducta paterna. Sin embargo, Brooks y colaboradores (2005) en un estudio realizado en esta misma especie, donde se utilizaron machos sin experiencia paterna, inhibió la producción de prolactina poco antes del nacimiento de las crías, usando dos agonistas dopaminérgicos: mesilato de bromocriptina y carbergolina, sustancias que suprimieron la acción de la prolactina no sólo antes del nacimiento de las crías, sino también después de éste. Ninguno de estos agonistas afectó la frecuencia o latencia de recuperación de las crías, a pesar de que los niveles periféricos de prolactina disminuyeron. Estos resultados mostraron que la prolactina hipofisaria parece no tener ningún efecto en la conducta paterna de este roedor. No obstante, es probable que haya producción de prolactina en regiones neurales implicadas en la regulación de la conducta paterna.

Oxitocina

La oxitocina es un neuropéptido, que es sintetizado en las células nerviosas del núcleo paraventricular del hipotálamo, desde donde es transportado por los axones de las neuronas hipotalámicas hasta sus terminaciones en la porción posterior de la neurohipófisis. Esta hormona es liberada en respuesta a estímulos hormonales como los estrógenos o mecánicos como la succión del pezón (Greenspan y Gardner, 2005; Jara, 2001).

Así mismo, esta hormona facilita la liberación de prolactina, su administración por vía intracerebral ventricular promueve el inicio de la conducta materna. Cuando a ratas vírgenes ovariectomizadas se les administra oxitocina en el bulbo olfatorio, se induce rápidamente el establecimiento de la conducta materna (Yu, *et al.*, 1996; Wynne-Edwards y Reburn, 2000). Esta hormona también ha sido relacionada con el establecimiento de la pareja en los roedores monógamos (Young, 1999).

El papel que puede tener esta hormona en la regulación de la conducta paterna ha sido poco estudiado; en el ratón de California no se han encontrado diferencias significativas en los niveles de esta hormona, entre machos que exhiben conducta paterna o aquellos que muestran agresión hacia las crías. También se ha demostrado que los machos que actúan en forma paterna después del parto tienen niveles similares de oxitocina que aquellos que son paternos (Gubernick, *et al.*, 1995). Estos resultados señalan que la oxitocina no está implicada en la regulación de la conducta paterna.

Vasopresina

La vasopresina es una hormona peptídica que es sintetizada en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular, que se almacena en la neurohipófisis. Su regulación depende de los cambios de osmolaridad y volumen circulatorio. Siendo metabolizada rápidamente en el hígado y los riñones (Greenspan y Gardner, 2005; Jara, 2001).

Esta hormona desempeña un papel importante en el establecimiento de la pareja en aquellas especies naturalmente bipaternas (Young, 1999). En el ratón de la pradera (*Microtus ochrogaster*), implantes de arginina-vasopresina en el septo lateral del macho, incrementa los cuidados hacia las crías (Wang, *et al.*, 1994). Asimismo, en este roedor la expresión del gen de la vasopresina aumenta, después del nacimiento de las crías. Este incremento es observado tanto en machos como en hembras. Sin embargo, este incremento en la expresión del gen de la vasopresina, no es observado en ratones polígamos con cuidados únicamente maternos (Wang, *et al.*, 2000)

Esta hormona también participa en la regulación de la conducta materna incrementando la afiliación social y facilita la liberación de prolactina (Wynne-Edwards y Reburn, 2000).

Progesterona

Los cuerpos lúteos en el ovario y la placenta son la fuente principal de progesterona, aunque también las glándulas adrenales producen esta hormona. En los machos es producida en glándulas adrenales y el hígado (Greenspan y Gardner, 2005; Jara, 2001).

En la rata se ha demostrado que esta hormona tiene un papel inhibitorio en la conducta materna, la supresión de esta hormona antes del nacimiento facilita el inicio del comportamiento materno (Wynne-Edwards y Reburn, 2000).

En el ratón de California las concentraciones de progesterona en plasma se correlacionaron negativamente con la actividad de la aromatasa en el área preóptica media. Se ha señalado que el descenso en la concentración de esta hormona y el incremento en la actividad de la aromatasa pueden contribuir en el encendido de la conducta paterna (Trainor, *et al.*, 2003). No obstante, en el hámster enano no se encontraron diferencias significativas en los niveles de esta hormona, entre los machos que exhibieron conducta paterna y los indiferentes hacia las crías, lo cual no apoya la hipótesis de que los machos que exhiben cuidados paternos tienen concentraciones de progesterona más bajas que los no paternales (Schum y Wynne-Edwards, 2005).

Testosterona

La testosterona es sintetizada en las células de Leydig a partir de colesterol, aunque en las glándulas suprarrenales también se produce en pequeñas cantidades. Esta hormona tiene diferentes efectos; regula la espermatogénesis, estimula la aparición de los caracteres sexuales secundarios. También ha sido relacionada en la regulación de la conducta agresiva (Jara, 2001; Greenspan y Gardner, 2005).

En las hembras de los mamíferos, las concentraciones de testosterona se incrementan después del parto y promueven la agresión materna (Wynne-Edwards y Reburn, 2000).

Los primeros estudios que correlacionaron la presencia de cuidados paternos con los niveles hormonales de testosterona, señalan que en roedores como el gerbo de Mongolia y el hámster enano se registra un incremento en los niveles plasmáticos de esta hormona antes del parto, seguido por un decremento después del nacimiento de las crías (Brown, *et al.*, 1995; Clark y Gales, 1999; Reburn y Wynne-Edwards, 1999). Esta disminución en los niveles de testosterona llevó a creer que en los mamíferos, la testosterona tenía un efecto inhibitorio en la conducta paterna. En las aves que habitan zonas templadas los niveles de testosterona se incrementan durante el periodo de apareamiento, pero disminuyen durante la incubación y crianza de los polluelos (Fivizzani y Oring, 1986; Ketterson, *et al.*, 1992). Sin embargo, en otros mamíferos como el primate cabeza de algodón tamarin (*Saguinus oedipus*), la conducta paterna es desplegada cuando los niveles de testosterona son tan altos como durante el apareamiento (Ziegler y Snowdon, 2000). En el ratón de California altos niveles de testosterona son necesarios para la exhibición de conducta paterna. En este roedor la castración redujo los cuidados paternos, mientras que el reemplazamiento con testosterona elevó la cantidad de cuidados paternos. Además, también se demostró

que la testosterona no regula de manera directa la conducta paterna, sino a través de su conversión a estradiol (Trainor y Marler, 2001; 2002).

Contrariamente, en el hámster enano, el estradiol no parece estar implicado en la regulación de la conducta paterna; los niveles plasmáticos de esta hormona no difieren significativamente entre los machos que cohabitan con la hembra preñada y los que exhiben cuidados paternos (Schum y Wynne- Edwards, 2005). Asimismo, la castración redujo la concentración de estradiol periférico, más de 10 veces, pero la respuesta paterna no fue afectada. Además, la administración de un inhibidor de la aromatasa, capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, tampoco tuvo efecto en esta conducta (Hume y Wynne- Edwards, 2005).

En el caso de los humanos, los niveles plasmáticos de testosterona también disminuyen cuando se convierten en padres (Burnham, *et al.*, 2003).

En el caso del gerbo de Mongolia, se ha observado que la conducta paterna y agresiva se presentan simultáneamente; en esta especie los niveles de agresión fueron significativamente más altos en los machos que exhibieron cuidados paternos que los machos mantenidos en aislamiento. Sin embargo, la testosterona no se pudo correlacionar con la agresión (Vázquez, 2007).

Características de la especie

El ratón de los Volcanes mide aproximadamente de 200 mm de largo, incluyendo cuerpo y cola; el pelaje dorsal es color sepia oscuro y la región ventral blanca. La cola también es oscura, excepto la punta, que es más clara. Su alimentación se basa en polen de gramíneas, raíces, plantas herbáceas, frutos y pequeños invertebrados (Fig.2; Davis y Follansbee, 1945; Aranda, *et al.*, 1980).

Se reproduce todo el año tanto en cautiverio, como en su hábitat natural. Presenta ciclo estral poliéstrico con una duración de 4 días ± 1 , el periodo de gestación es de 27 días, tiene un promedio de 3 crías por camada. En cautiverio el macho participa en el cuidado de sus crías. Este ratón ha sido recientemente introducido al laboratorio como modelo de estudio de obesidad y etología (Davis y Follansbee, 1945; Aranda, 1980).

Este ratón se reproduce en cautiverio, tiene una longevidad de aproximadamente 4 años, es fácil de manejar y se caracteriza por ser muy dócil (Davis y Follansbee, 1945; Aranda, *et al.*, 1980).

Sus principales depredadores son algunas serpientes, aves rapaces nocturnas y mamíferos carnívoros como el gato montés y el coyote (Ceballos y Galindo, 1984).



Figura 2. Hembra y macho del ratón de los Volcanes.

Hábitat

El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*) es una especie endémica de México, su hábitat está restringido al Eje Neovolcánico Transversal. El hábitat de este ratón se ubica en un rango altitudinal de los 2440 a los 4500 m.s.n.m. Su distribución abarca los estados de México, Michoacán, Morelos, Puebla y Veracruz (Navarro, 2007) (Fig. 3). El hábitat de este roedor está constituido por bosque mixto; en las partes altas y montañosas se encuentran asociaciones de pino-encino y en las regiones bajas pino-abeto. Constituyen elementos importantes en el hábitat del ratón de los volcanes varias especies de gramíneas, llamadas comúnmente zacatón, de los géneros *Stipa*, *Muhlenbergia* y *Festuca*. Las hojas de estas gramíneas son utilizadas por este roedor para construir su nido (Aranda, *et al.*, 1980).

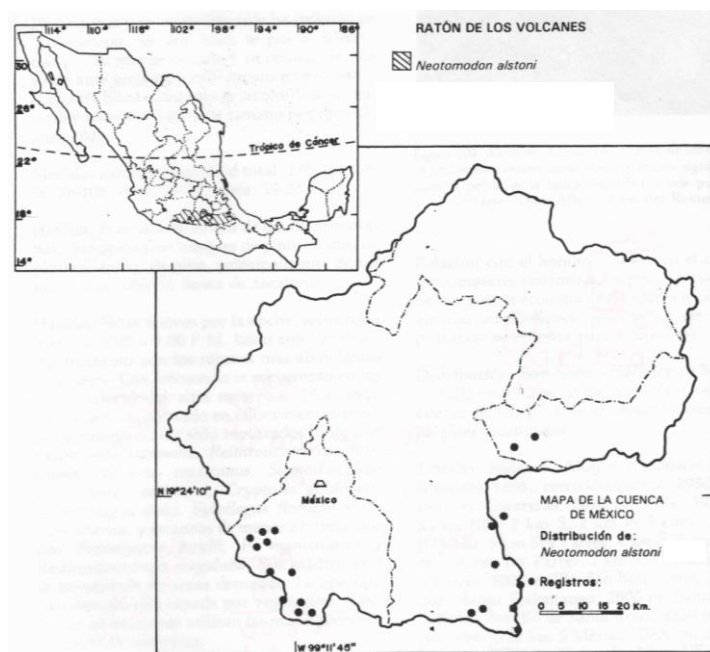


Figura 3. Mapa de distribución del ratón de los Volcanes *Neotomodon alstoni* (Tomado de Ceballos y Galindo, 1984).

ANTECEDENTES

El ratón de los volcanes en cautiverio exhibe cuidados paternos; el macho participa más que la hembra en el abrigo, acicalamiento y olfateo de las crías (Luis, *et al.*, 2000). La presencia del macho durante el período de lactancia tiene efectos positivos en la sobrevivencia y desarrollo de los hijos (Luis, *et al.*, 2003). En este ratón los niveles plasmáticos de testosterona no varían significativamente con la presencia de las crías. Sin embargo, los machos que invirtieron más tiempo en el abrigo en el día de nacimiento de las crías presentaron niveles más altos de testosterona (Luis, *et al.*, 2009).

Estos resultados sugieren que esta hormona esteroide participa en la regulación de la conducta paterna, en este contexto el modelo de castración podría determinar cuál es la función que tiene la testosterona en la regulación de esta conducta.

Sin embargo, aún es difícil determinar cuáles son los factores que intervienen en el mantenimiento de este tipo de conducta, en estas especies de roedores. Aunque se señala que tanto el apareamiento, la interacción con la hembra preñada, la presencia de las crías y el incremento de ciertas hormonas son estímulos suficientes para desencadenar la exhibición de la conducta paterna (Elwood, 1983).

Dependiendo de la especie, existen diferentes factores relacionados como la experiencia del macho, que parecen estar involucrados en la organización y activación de la conducta paterna (Clark y Galef, 1999).



HIPÓTESIS

Se ha señalado que los machos del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*) exhiben conducta paterna cuando sus niveles de testosterona son altos como durante el apareamiento, por lo que sugiere que esta hormona está involucrada en la regulación de esta conducta, de ser así la castración y reemplazamiento de testosterona afectará la exhibición de cuidados paternos.



OBJETIVOS

General

Establecer si la testosterona participa en la regulación de la conducta paterna del ratón de los Volcanes

Particulares

- Determinar el efecto de la castración en la conducta paterna del ratón de los Volcanes.
- Determinar el efecto de la colocación de implantes de testosterona en machos castrados en la conducta paterna de este ratón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Captura de organismos

Los animales utilizados en este estudio fueron la generación F1, procedentes de animales silvestres que fueron introducidos en el laboratorio. Los ratones silvestres fueron capturados de abril a julio del 2008, en la Sierra del Volcán Ajusco, en una región ubicada entre los kilómetros 44 y 60 de la carretera federal a Cuernavaca. Para las capturas se utilizaron trampas tipo Sherman y hojuelas de avena como cebo. Estas trampas se colocaron bajo los zacatonales entre las 17:00 y 18:00 hrs, marcando el lugar con una cinta plástica y fueron recogidas al día siguiente entre las 8:00 y 10:00 hrs.

Los ratones capturados fueron transportados al laboratorio para su ectodesparasitación y marcaje. Después de un período de cuarentena se formaron parejas al azar, las cuales fueron apareadas por el sistema monogámico. Los hijos (F1) fueron utilizados en este estudio.

Mantenimiento de los animales

Estos ratones se mantuvieron en el laboratorio con un foto período 12: 12 h de luz-oscuridad, se les proporcionó Pelets para roedores de Harlan como alimento y agua *ad libitum*. Esta dieta se complementó con zanahoria dos veces por semana. También se realizó una rotación semanal de los organismos en una rueda de ejercicio para evitar el sobrepeso.

Selección de los animales de estudio

Este estudio se realizó con ratones machos castos con una edad entre 250 a 300 días que fueron sometidos a pruebas de conducta paterna, para seleccionar aquellos machos agresivos o indiferentes hacia las crías. A través de este mecanismo fueron seleccionados 30 machos, los cuales fueron organizados en tres grupos:

Grupo 1: se les realizó una castración bilateral.

Grupo 2: se les simuló la castración + colocación de implantes vacíos.

Grupo 3: castración bilateral + colocación de implantes subcutáneos de testosterona.

Pruebas de Conducta Paterna

Las pruebas de conducta paterna se realizaron durante la selección de los ratones que se utilizaron en el estudio y después del tratamiento al que fueron sometidos los ratones de cada uno de los tres grupos.

A cada macho se le colocó individualmente en una jaula de observación (33x 45x 18 cm.) con cama de aserrín por 5 minutos antes de la prueba para su adecuación al lugar. Posteriormente, se introdujo una cría ajena de la misma especie de 1- 3 días de nacida.

En el caso en que los machos exhibieron conducta paterna, se registraron los siguientes parámetros: la latencia de inicio (tiempo que transcurre desde que la cría es introducida hasta que se observa alguna actividad paternal), también se registró el tiempo de abrigo y acicalamiento, la frecuencia de olfateo y recuperación de la cría. El periodo de observación fue de 11 a 14 horas, el tiempo de registro fue de 10 minutos. El método de observación utilizado fue el focal. Estas observaciones se realizaron bajo

luz natural. Cuando la cría fue agredida esta fue retirada inmediatamente y en algunos casos eutanizada.

Orquidectomías

Cada uno de los ratones fue anestesiado con una dosis de ketamina de 80 mg/ kg de peso y xilazina de 10 mg/ kg de peso. Una vez anestesiado, se depiló el área escrotal y en seguida se realizó la asepsia de esta región (Fig. 4).

Con un bisturí, se realizó una incisión sobre las bolsas escrotales exponiendo el testículo, en seguida se ligaron las arterias que corren paralelamente a los conductos deferentes y se cortó el testículo para extraerlo. Finalmente se suturó con Cat Gut (tejidos internos) y seda 000 (piel).

En el caso de los ratones con castración simulada, sólo se expusieron los testículos y en seguida se colocaron de nuevo en la cavidad escrotal y se suturó.



Figura 4. Orquidectomía del ratón de los Volcanes.

Implantes de Testosterona

Se elaboraron implantes de 1 cm de tubo Silástico (1.47mm x 1.96mm), los cuales fueron esterilizados para después ser llenados con testosterona (1mm: 0.1g). Los extremos del tubo fueron sellados con silicón. Para verificar la liberación de la testosterona se realizó previamente una prueba in Vitro, en la que 10 implantes fueron colocados dentro de tubos Eppendorf con 1.5 ml de solución fisiológica. Después de 8 días la solución fisiológica de los tubos Eppendorf fue vaciada sobre papel negro y al secarse se observó que la testosterona se había difundido a este medio a partir del implante.

En los ratones del segundo y tercer grupo, los implantes fueron colocados de 8 a 10 días después de realizarse las orquidectomías, por debajo de la epidermis en la región dorsal del ratón.

Niveles plasmáticos de Testosterona

Para cuantificar los niveles de testosterona, a cada uno de los ratones de los tres grupos se les extrajo una muestra sanguínea de 200 μ l por vía retrorbital utilizando capilares heparinizados de 75 mm, antes de la cirugía y 5 días después de ésta. En el caso de los ratones del tercer grupo, se tomó una tercer muestra sanguínea después de realizar las pruebas de conducta paterna, para determinar los niveles de testosterona liberados del implante. Todas las muestras fueron tomadas antes de las 13 h.

Las muestras sanguíneas fueron centrifugadas a 5000 rpm, durante 10 minutos, el plasma fue separado con una micro- jeringa Hamilton de 50 μ l.

Todas las muestras obtenidas, fueron almacenadas a -40° C hasta su análisis por medio de la técnica de RIA (radioinmunoanálisis). Esta prueba se realizó por duplicado utilizando los kits Coat-A-Count Siemens para Testosterona Total TKTT11939 y TKTT11977 (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) con 125 I Testosterona y una sensibilidad de 0.04 ng/ml. Los coeficientes de variación fueron de 1.96 y 5.34% (Apéndice I).

Las concentraciones de testosterona medida en los ratones de los tres grupos fueron contrastadas aplicando una ANOVA de dos vías de medidas repetidas utilizando el programa JMP.

RESULTADOS

Conducta Paterna

Grupo 1 (ratones castrados): la castración no tuvo ningún efecto en la conducta de estos ratones; antes de la orquidectomía el 44.44% fueron agresivos y el 55.56% fueron indiferentes, durante las pruebas de conducta. Después de la orquidectomía se observó el mismo comportamiento.

Grupo 2 (ratones con castración simulada + implantes vacíos): la simulación de la castración tampoco afectó la conducta de estos ratones; antes de la simulación de la castración el 25% de estos ratones fueron agresivos y el 75% mostraron indiferencia hacia las crías. Después de la simulación de esta cirugía el 12.5% fueron agresivos, mientras que el 87.5% fueron indiferentes.

Grupo 3 (ratones castrados + implantes de testosterona): antes de la orquidectomía y reemplazamiento con testosterona, el 81.82% fueron agresivos y el 18.18% fueron indiferentes. Después del tratamiento (castración + implantes de testosterona), el 27.27% fueron agresivos, el 18.18% indiferentes y el 54.55% exhibió conducta paterna.

Concentraciones de Testosterona

En la Fig. 5, se muestran las concentraciones de testosterona de los ratones del Grupo 1, antes y después de la castración. En la Fig. 6, están representados los niveles de testosterona de los ratones del Grupo 2, antes y después de la simulación de la castración. En la Fig. 7, se presentan las concentraciones de testosterona de los

ratones del Grupo 3, antes y después de castración, así como durante la liberación de esta hormona del implante.

Al comparar las concentraciones de testosterona entre los tres grupos se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de esta hormona entre los tratamientos ($F_{(2,25)} = 3.60$; $P < 0.05$). El análisis de medias repetidas mostró que los ratones castrados y con implantes de testosterona presentaron una concentración significativamente mayor que los ratones de los otros dos grupos (Ver Apéndice II).

Es importante mencionar que los ratones que exhibieron conducta paterna tuvieron una concentración de testosterona de 0.54 a 7.79 ng/ml, los ratones con una concentración de testosterona por arriba del valor superior de este rango no presentaron conducta paterna.

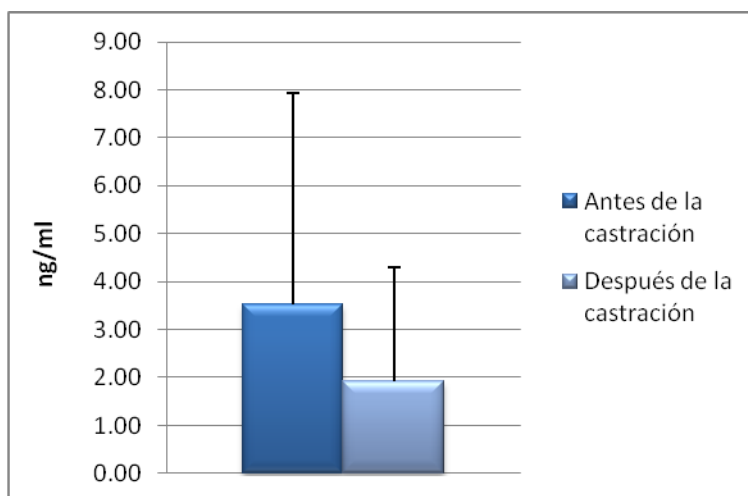


Figura 5. Concentraciones de testosterona en ratones de los volcanes, antes y después de la castración.

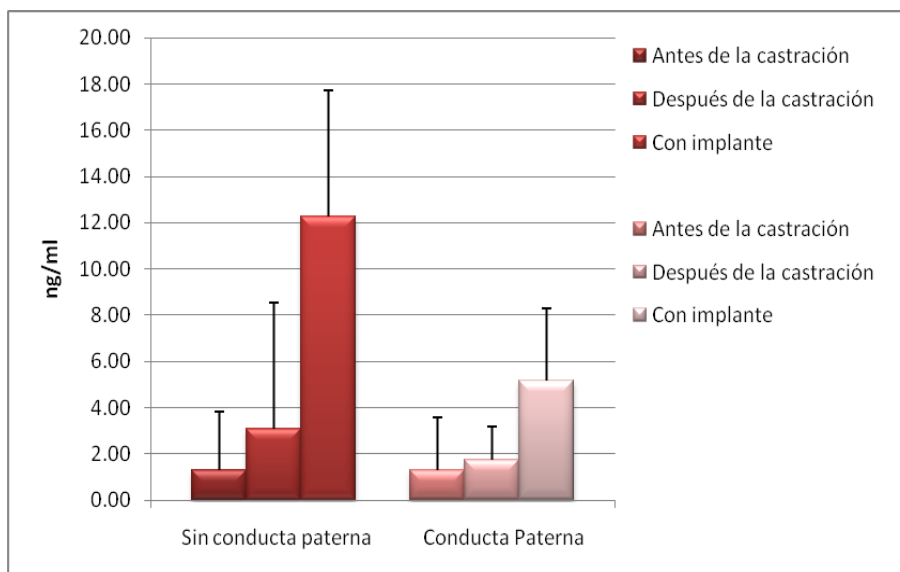


Figura 6. Concentraciones de testosterona en ratones de los volcanes con castración simulada e implantes vacíos antes y después de la simulación de esta cirugía.

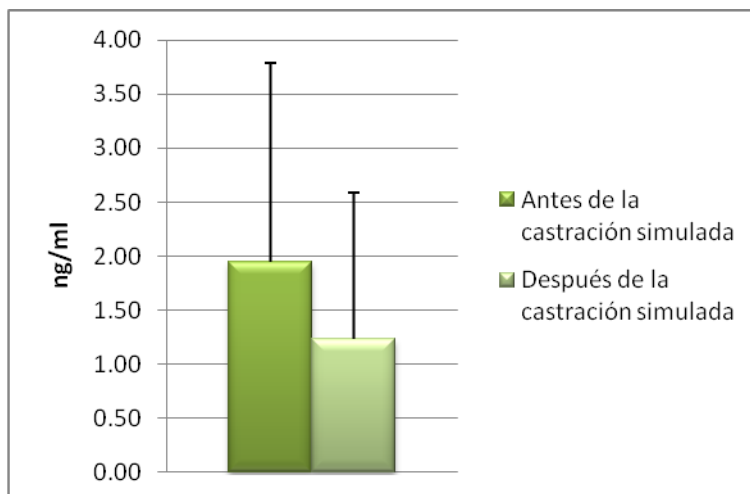


Figura 7. Concentraciones de testosterona en los ratones de los volcanes, antes y después de la castración, y con implantes de testosterona.

En el Cuadro 2 se presentan las conductas observadas durante las pruebas de conducta paterna. El abrigo fue la conducta paterna observada en todos los ratones que exhibieron conducta paterna después de la castración y reemplazamiento con testosterona.

Cuadro 2. Actividades que presentaron los machos que exhibieron conducta paterna.

Conductas observadas en machos castrados con implantes de testosterona.	
Abrigo	✓
Acicalamiento	✓
Olfateo	✓
Construcción del nido	✓
Recuperación de la cría	

DISCUSIÓN

Sólo los ratones castrados y con reemplazamiento de testosterona exhibieron conducta paterna, lo cual sugiere que la testosterona participa en la regulación de esta conducta. La inducción de esta conducta ocurrió en un rango de concentración de 0.54 a 7.79 ng/ml, lo cual puede indicar que cuando los niveles de testosterona sobrepasan el rango fisiológico no hay exhibición de conducta paterna, tal vez debido a la saturación de los receptores de esta hormona en las áreas neurales, implicadas en la regulación de esta conducta, como el MPOA (Lee y Brown, 2007).

Las concentraciones periféricas de testosterona de los ratones castrados en los que se indujo la conducta paterna con reemplazamiento de testosterona son superiores a los reportados para esta especie (0.15 a 0.23 ± 0.06 ng/ml), cuando el macho de manera natural exhibe conducta paterna (Luis, *et al.*, 2009).

Cabe mencionar, que algunos ratones en este estudio presentaron concentraciones de testosterona, en el rango en el que exhibieron conducta paterna los ratones con castración y reemplazamiento hormonal, esto puede indicar que la conducta paterna probablemente, sea inducida por el incremento en los niveles de esta hormona, ocasionado por la liberación de testosterona del implante y no a la concentración de ésta.

Durante el ciclo reproductivo del ratón de los Volcanes se registran elevaciones en los niveles de testosterona principalmente durante la cohabitación con la hembra, periodo en el que ocurre el apareamiento. En el gerbo de Mongolia también se registran incrementos en los niveles de esta hormona durante la cohabitación con la hembra y en el día de nacimiento (las hembras presentan estró postparto). Estos incrementos se cree son ocasionados por el apareamiento y podrían ser el estímulo que dispare la conducta paterna (Luis, *et al.*, 2009; Luis, *et al.* en prensa).

En el gerbo de Mongolia la cohabitación del macho con la hembra causa cambios neuroendócrinos que inhiben el comportamiento agresivo y promueven la conducta paterna (Brown *et al.*1995). En el ratón de California se ha observado que los estímulos quimiosensoriales de la hembra promueven la conducta paterna cuando las crías no están presentes (Gubernick and Alberts 1987).

Por otra parte, en roedores como el ratón de California se señala que la testosterona mantiene los cuidados paternos; en este roedor los machos castrados con reemplazamiento de testosterona mostraron niveles más altos de conducta paterna que los machos castrados sin reemplazamiento hormonal (Trainor y Marler, 2001).

En el ratón de California la testosterona no ejerce sus efectos de manera directa, sino a través de su conversión a estrógenos en el MPOA; el tratamiento con testosterona o estrógenos produce significativamente altos niveles de conducta paterna, mientras que la administración de inhibidores de la aromatasa, enzima que transforma la testosterona en estrógenos, bloquea los efectos positivos de la testosterona en la conducta paterna, pero no los de los estrógenos. Estos resultados podrían explicar como la conducta paterna es expresada en varias especies de mamíferos cuando sus niveles de testosterona son relativamente altos (Trainor y Marler, 2002).

En el ratón de la pradera bajos niveles de testosterona ocasionados por la castración no tienen efecto sobre la conducta paterna. En *Phodopus cambelli* aunque la castración redujo de manera significativa las concentraciones periféricas de testosterona y estradiol, la conducta paterna no fue alterada. Además en este roedor la administración de un inhibidor de la aromatasa que atraviesa la barrera hematoencefálica tampoco tuvo ningún efecto en la conducta paterna (Hume y Wynne Edwards, 2005; 2006).

La conducta paterna que fue inducida por el reemplazamiento de testosterona, en el ratón de los Volcanes, estuvo integrada por actividades como el abrigo, el

acicalamiento y la construcción del nido. Estas pautas conductuales son parte de la conducta paterna natural de este ratón (Luis *et al.*, 2000). La conducta de abrigo fue observada en todos los machos en los que se indujo la conducta paterna. En los cuidados paternos, esta conducta se considera la más importante debido a que reduce la pérdida de calor de las crías (Elwood, 1983).

Aunque solo fue posible inducir la conducta paterna en los ratones con reemplazamiento de testosterona, las altas variaciones en la concentración de esta hormona llevan a interpretar estos resultados con reservas, por lo cual para establecer de manera objetiva el papel que esta hormona tiene en la regulación de la conducta paterna, se debe repetir este estudio, analizando que posibles variables influyeron en estos resultados, principalmente respecto a las concentraciones de testosterona.

En los roedores parecen existir dos patrones en la regulación de la conducta paterna: uno en el que la testosterona participa en la regulación de esta conducta, vía conversión a estrógenos y el otro en el que ninguna de estas dos hormonas parecen estar implicadas en la regulación de esta conducta.

En los roedores la conducta paterna no está restringida a líneas filogenéticas específicas, en su lugar ha evolucionado en especies individuales, en respuesta a condiciones ecológicas locales que demandan el cuidado de los dos padres para optimizar los sucesos reproductivos; por lo cual es posible que las vías neuroendocrinas que conducen a la conducta paterna no sean compartidas entre especies (Wynne Edwards y Timonin, 2007).

CONCLUSIONES

- Solamente los ratones castrados y con reemplazamiento de testosterona exhibieron conducta paterna.
- Se sugiere que el incremento en los niveles de testosterona puede ser el estímulo que dispare la conducta paterna en este roedor; sin embargo, no deben sobrepasar el rango fisiológico para que esta conducta pueda observarse.
- Se observaron pautas conductuales como el abrigo, el acicalamiento y la construcción del nido en los ratones del tercer grupo que presentaron conducta paterna.
- La conducta de abrigo se observó en todos los ratones que presentaron conducta paterna.

LITERATURA CITADA

1. Aranda S. J., C. Martínez, C. Colmenero, y V. M. Magallón. 1980. *Los Mamíferos de la Sierra del Ajusco*. Comisión Coordinadora para el Desarrollo Agropecuario del Departamento del Distrito Federal. 1a Edición. México. 81-84.
2. Berg and Wynne- Edwards. 2001. *Changes in testosterone, cortisol and estradiol levels in men becoming fathers*. Clin. Proc. 76: 582- 592.
3. Brooks, P. L., Vella, E. T. and Wynne- Edwards, K. E. 2005. *Dopamine agonist treatment before and after the birth reduces prolactin concentration but does not impair paternal responsiveness in Djungarian hamsters, Phodopus campbelli*. Hormones and Behavior. 47:358-366.
4. Brown, R. E. 1985. *Hormones and paternal behavior in vertebrates*. Amer. Zool. 25: 895-910.
5. Brown, R. E., Mordoch T., Murphy P. R. and Moger W. H. 1995. *Hormonal responses of male gerbils to stimuli from their mate and pups*. Hormones and Behavior 26:114-118.
6. Burnham, T. C., Flynn Chapman J., Gray P.B., McIntyre M.H., Lipson S.F., and Ellison P.T. 2003. *Men in committed, romantic relationships have lower testosterone*. Hormones and Behavior. 44: 119–122.
7. Cantoni, D. and Brown, R. E. 1997. *Parental investment and reproductive success in the California mouse, Peromyscus californicus*. Animal Behaviour. 54: 377- 386.

8. Ceballos, G. G. y Galindo L. C. 1984. *Mamíferos silvestres de la cuenca de México*. Editorial Limusa. México.
9. Clutton-Brock, T. H. 1991. *The evolution of parental care*. Princenton University Press.
10. Davis, B. W. and Follansbee, A. L. 1945. *The Mexican Volcano Mouse, Neotomodon*. Journal of Mammalogy. 26 (4): 401-411.
11. Elwood, R. W. 1983. *Paternal care in rodents*. In R. W. Elwood (eds.), Parental Behavior of rodents. Cichester. John Wiley. 235-257pp.
12. Fivizzani, A. R. and Oring L. W., 1986. *Plasma steroid hormones in relation to behavioral sex role reversal in the spotted sandpiper, Actitis macularia*. Biol. Reprod. 35, 1195-1201.
13. González, C. A. 2005. *Bases Biológicas de la Conducta Paterna en los Roedores*. Tesina de Licenciatura. Facultad de Estudios Iztacala, UNAM, México. 66 pp.
14. Greenspan F. S. y Gardner D. G. 2005. *Endocrinología básica y clínica*. Editorial Manual Moderno. 6ª Edición. México. 1033 pp.
15. Gubernick, D. J. and Alberts, J. R. 1987. *The biparental care system of the California mouse, Peromyscus californicus*. J. Comp. Psych. 101: 169- 177.
16. Gubernick, D. J. and Nelson, R. J. 1989. *Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse, Peromyscus californicus*. Hormones and Behavior. 23: 203-210.

17. Gubernick, D. J. and Laskin, B. 1994. *Mechanisms influencing sibling care in the monogamous biparental California mouse, Peromyscus californicus*. Anim. Behav. 48: 1235-1237.
18. Gubernick, D. J., Winslow, J. T., Jensen, P., Jeanotte, L. and Bowen, J. 1995. *Oxytocin changes in male over the reproductive cycle in the monogamous, biparental California mouse, Peromyscus californicus*. Hormones and Behavior. 29: 59-73.
19. Gubernick, D. J. and Teferi, T. 2000. *Adaptative significance of male parental care in a monogamous mammal*. Proc. R. Soc. Lond. 267: 147- 150.
20. Hume, J. M. and Wynne- Edwards, K. E. 2005. *Castration reduces male testosterone, estradiol, and territorial aggression, but not paternal behavior in biparental dwarf hamsters (Phodopus campbelli)*. Department of Biology, Queen's University, Kingston, Ontario, Canada. 48: 303- 310
21. Hume, J. M. and Wynne- Edwards. K. E. 2006. *Paternal responsiveness in biparental dwarf hamsters (Phodopus campbelli) does not require estradiol*. Hormones and Behavior. 49: 538- 544.
22. Jara, A. A. 2001. *Endocrinología*. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
23. JMP, Version 7. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
24. Jones, J. S. 2000. *Endogenous and exogenous requirements for natural paternal behaviour including midwifery*. M. Sc. Thesis. Queen`s University. Kingston. Canada.

25. Jong, T. R., Chauke, M., Harris, B. N. and Saltzman, W. 2009. *From here to paternity: Neural correlates of the onset of paternal behavior in California mice (Peromyscus californicus)*. Hormones and Behavior. 56: 220-231.
26. Ketterson, E. D., Nolan, V. Jr., Wolf, L. and Ziegenfus, C., 1992. *Testosterone and avian life histories: effects of experimentally elevated testosterone on behavior and correlates of fitness in the dark eyed junco (Junco hyemalis)*. Am. Nat. 140: 980-999.
27. Kleiman, D. G. and Malcolm. 1981. *The evolution of male parental investment in mammals*. In D. J. Gubernick y H. Klopfer (eds), Parental Care in Mammals. Nueva Cork, Plenum Press. 347-387 pp.
28. Lee, A. W. and Brown, R. E. 2007. *Comparison of medial preoptic, amygdala and nucleus accumbens lesions on parental behavior in California mice (Peromyscus californicus)*. 92: 617-628.
29. Levy, F. Keller and Poindron. 2004. *Olfactory regulation of maternal behavior in mammals*. Hormones and Behavior. 46: 284–302.
30. Luis, J., Carmona, A., Delgado, J., Cervantes, A. and Cárdenas, R. 2000. *Parental Behavior of the Volcano Mouse, Neotomodon alstoni (Rodentia: Muridae), in captivity*. Journal of Mammalogy. 81(2): 600- 605.
31. Luis, J., Cervantes, A., Martínez, T. M., Cárdenas, R., Delgado, J. and Carmona, A. 2003. *Male influence on maternal behavior and offspring of captive volcano mice (Neotomodon alstoni) from Mexico*. Journal of Mammalogy. 85 (2): 268- 272.

32. Luis J, Ramírez L, Carmona A, Ortiz, Delgado and Cárdenas R. 2009. *Paternal behavior and testosterone plasma levels in the Volcano Mouse Neotomodon alstoni (Rodentia: Muridae)*. Rev. Biol. Trop. Vol. 57 (1-2).
33. Maier, R. 2001. *Comportamiento Animal*. Mc Graw Hill. México. 252- 275 pp.
34. Navarro, F. J.; González, R. N. y Alvarez, C. S. T. 2007. *Los mamíferos silvestres de Milpa Alta, Distrito Federal: Lista actualizada y consideraciones para su conservación*. Acta Zoológica Mexicana. 23 (3): 103- 124.
35. Numan, M.; Fleming A. S. and Levy F. 2006. *Maternal Behavior in Knobil y Neills, eds. Physiology of Reproduction*. Volume 2 Third Edition. Academic Press NY p.1952-1993.
36. Numan, M. and Stolzenberg, D. S. 2009. *Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of the maternal behavior in rats*. Frontiers in Neuroendocrinology.30: 46-64.
37. Ramírez, H. L. 2005. *El papel de la testosterona en la regulación de la conducta paterna del ratón de los volcanes (Neotomodon a. alstoni)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México. 46 pp.
38. Reburn, C. J. and Wynne- Edwards, K. E. 1999. *Hormonal changes in males of naturally biparental and uniparental mammals*. Hormones and Behavior.35: 163- 176.
39. Schum, J. E. and Wynne-Edwards, K. E. 2005. *Estradiol and progesterone in paternal and non-paternal hamsters (Phodopus) becoming fathers: conflict with hypothesized roles*. Hormones and Behavior. 47:410-418.

40. Stack, E. C., Balakrishnan, R., Numan, M. J. and Numan, M. 2002. *A functional neuroanatomical investigation of the role of the medial preoptic area in neural circuits regulating maternal behaviour*. Behav. Brain. Res. 131:17–36.
41. Trainor, C. B. and Marler, A. C. 2001. *Testosterone, Paternal Behavior and Aggression in the Monogamous California Mouse (Peromyscus californicus)*. Hormones and Behavior. 40:32-42.
42. Trainor, C. B. and Marler A. C. 2002. *Testosterone promotes paternal behaviour in monogamous mammal via conversion to estrogen*. The Royal Society. 823-829.
43. Trainor, C. B., Bird, I. M., Alday, N. A., Shlinger, B. A. and Marler, C. A. 2003. *Variation in aromatase activity in the medial preoptic area and plasma progesterone is associated with the onset of paternal behavior*. Neuroendocrinology. 78: 36-44.
44. Vázquez, B. 2007. *Conducta paterna, agresión y niveles de testosterona en el gerbo de Mongolia (Meriones unguiculatus)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México. 46 pp.
45. Wang, Z., Ferris, C. F. and De Vries, G. J. 1994. *Role of septal vasopressin innervations in paternal behavior in prairie voles (Microtus ochrogaster)*. Proc. Nat. Acad. Sci. 91: 400-404.
46. Wang, Z. X., Liu, Y. and Insel, T. R. 2000. *Hypothalamic vasopressin gene expression increases in both males and females postpartum in a biparental rodent*. J. Neuroendocrinology. 12: 11-120.

47. Wynne-Edwards, K. E. and Reburn, C. J. 2000. *Behavioral endocrinology of mammalian fatherhood*. *Tree*. 15 (11) 464-468 pp.
48. Wynne-Edwards, K. E. 2001. *Hormonal changes in mammalian fathers*. *Hormones and Behavior* 40: 139-145 pp.
49. Wynne-Edwards, K. E. and Timonin, M. E. 2007. *Paternal care in rodents: Weakening support for hormonal regulation of the transition to behavioral fatherhood in rodent animal models of biparental care*. *Hormones and Behavior*. 52: 114-121.
50. Young, L. J., Winslow, J. T., Nilsen, R. and Insel, T. R. 1997. *Species differences in V receptor gene expression in monogamous and non-monogamous voles: Behavioral consequences*. *Behav. Neurosci.* 111: 500-605.
51. Young, L. J. 1999. *Oxytocin and vasopressin receptors and species typical social behaviors*. *Hormones and Behavior*. 36: 212-221.
52. Yu, G. Z., Kaba, H., Okutani, F., Takahashi, S. and Higuchi, T. 1996. *The olfactory bulb: a critical site of action for oxytocin in the induction of maternal behaviour in the rat*. *Neuroscience*. 72: 1083– 1088.
53. Ziegler, T. E. and Snowdon, C. T. 2000. *Preparental hormone levels and parenting experience in male cotton-top tamarins, Saguinus oedipus*. *Hormones and Behavior*. 38: 159-167.

Apéndice I

Técnica de RIA (Radioinmunoanálisis)

Esta técnica fue realizada en el Laboratorio de Biología de la Reproducción Humana en el Hospital Juárez de la Secretaría de Salubridad por la M. en C. Ma. de los Angeles Granados Silvestre.

Dicho procedimiento se basa en utilizar un anticuerpo específico para testosterona que se encuentra en la pared de un tubo de polipropileno, esta testosterona está marcada con ^{125}I y compite con la testosterona de la muestra por los sitios de unión de los anticuerpos.

Posteriormente, el tubo se decanta para separar la testosterona unida de la libre y se cuenta en un contador gama; la cantidad de testosterona en la muestra se determina en una curva de calibración.

Apéndice II

Tabla de ANOVA (JMP®)

	d. f.	SS	MS	F	P
Tiempo	2	24.85	4.97	3.34	0.052
Tratamiento	2	103.69	2.07	3.60	0.042
Interacción Tratamiento* Tiempo	4	128.54		4.03	0.006

Gráfica de análisis de medias repetidas.

