

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE CIENCIAS

**EFECTO DEL FOTOPERÍODO DE
DÍAS CORTOS Y DÍAS LARGOS
EN EL TAMAÑO Y
MORFOLOGÍA TESTICULAR
DEL RATÓN DE LOS VOLCANES
(*Neotomodon alstoni alstoni*,
MERRIAM, 1898)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

CITLALLI FUENTES GRANADOS

Tutor: Dr. Manuel Miranda Anaya

Cotutor: M. en C. Agustín Carmona Castro

2008





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.

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno
Fuentes
Granados
Citlalli
57 30 04 04
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
301149279
2. Datos del tutor
Doctor
Manuel
Miranda
Anaya
3. Datos del cotutor
M. en C.
Agustín
Carmona
Castro
4. Datos del sinodal 1
Doctora
Rosario
Ortiz
Hernández
5. Datos del sinodal 2
Doctora
Silvia
Arteaga
Hernández
6. Datos del sinodal 3
M. en C.
Enrique
Moreno
Sáenz
7. Datos del trabajo escrito
Efecto del fotoperíodo de días cortos y días largos en el tamaño y morfología testicular del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*, Merriam, 1898)
77 pp.
2008

*“Entre el día y la noche hay un territorio inexplorado.
No es sol ni es sombra: Es tiempo”*

Octavio Paz

DEDICATORIA

A mis padres y hermanas:

Isabel Granados López
Félix José Luis Fuentes Zárate
Nelli Y. Fuentes Granados
Itzel Fuentes Granados

Por su apoyo y amor incondicionales.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre por ser un ejemplo a seguir de fortaleza y superación. Muchas gracias por todo el apoyo, amor e inspiración. No existen las palabras que puedan expresar mi gratitud.

A mi padre por su apoyo incondicional y amor. No existen las palabras que puedan expresar mi gratitud.

A mi hermana Itzel por su apoyo y cariño. Eres una persona admirable, sigue siempre hacia adelante.

A mi hermana Nelli por su apoyo e inmenso cariño. Recuerda que siempre se pueden llegar a superar los obstáculos, aunque a veces no sea tan sencillo. Sigue adelante, eres muy capaz.

A mi tía Natividad Granados por estar al pendiente de mí y ser parte importante de mi trayectoria.

A mi tía Raquel y a mi abuelita Gerdutriz: Gracias por el apoyo y el cariño que me han brindado.

Al Dr. Manuel Miranda (director de tesis), por ser parte importante de mi formación, por su asesoría en este trabajo, por compartir todos sus conocimientos y sobre todo su amistad.

Al M. en C. Agustín Carmona (codirector de tesis), por el apoyo brindado en este trabajo, por todos los momentos gratos de convivencia, todas las pláticas y su amistad.

Al M. en C. Enrique Moreno, por despertar mi interés en los ritmos biológicos y su orientación en la elaboración de este trabajo.

A la M. en B. María Eugenia Muñiz, por su apoyo, conocimientos y amistad. Especialmente, agradezco su colaboración en el procesamiento histológico de las muestras. Mil gracias Maru.

A la Dra. Juanita Alba, por su colaboración en el tratamiento de las muestras para el análisis de testosterona.

A la Dra. Rosario Ortiz por su asesoría en el trabajo escrito. En especial por su ayuda en la interpretación histológica de las muestras procesadas. Muchísimas gracias.

A la Dra. Silvia Arteaga, por darse el tiempo de colaborar en la revisión de este trabajo.

A la Profesora Anabel por su colaboración en la toma de fotomicrografías de este trabajo.

Al personal del Bioterio de la Facultad de Ciencias, por permitirme llevar a cabo una parte muy importante de este trabajo.

Agradezco a Geny Ocampo y Katy por el apoyo en las salidas al campo y todos los buenos momentos de convivencia.

Al laboratorio de Biología Animal Experimental, así como al Dr. René Cárdenas, por permitirme trabajar en ese lugar.

Agradezco a mis amigos del NASAFECILIOMALAUNOJACA, así como a mis amigos de la Facultad de Ciencias, por su amistad y las palabras de aliento. Los quiero.

Agradezco a todas las personas que de una u otra forma han colaborado en este trabajo, así como a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias, por abrirme sus puertas y permitir mi formación académica.

ÍNDICE

APARTADOS	PÁGINAS
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 Ritmos biológicos	3
2.2 Fotoperiodismo en mamíferos	6
2.2.1 La glándula pineal y el fotoperiodismo en mamíferos	7
2.2.2 El sistema circadiano y la medición del fotoperíodo	10
2.2.3 Historia fotoperiódica: cambios en la duración del día.....	11
2.2.4 Fotorrefractoriedad.....	11
2.3 Ritmos estacionales	12
2.4 Fotoperiodismo y ritmos circanuales en los mamíferos	15
2.4.1 Reproducción	15
2.4.1.1 La glándula pineal y la reproducción	16
2.4.2 Actividad locomotriz	18
2.4.3 Peso corporal	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
4. ANTECEDENTES	22
4.1 Biología del ratón de los volcanes.....	22
4.2 Histología testicular y espermatogénesis en el ratón de los volcanes.....	24
5. JUSTIFICACIÓN	27
6. HIPÓTESIS	27
7. OBJETIVOS	28
7.1 Objetivo general	28
7.2 Objetivos particulares	28
8. MATERIALES Y MÉTODOS	29
8.1 Obtención , cuidado y mantenimiento de los animales	30
8.2 Control fotoperiódico y registro crónico de actividad locomotriz en piso.....	31
8.3 Evaluación del efecto del fotoperíodo	35
8.3.1 Tamaño testicular	35

8.3.2 Histología testicular	36
8.3.3 Concentración plasmática de testosterona.....	36
8.3.4 Peso corporal	37
8.3.5 Análisis estadístico de los datos	37
9. RESULTADOS	38
9.1 Control fotoperiódico y registro crónico de actividad locomotriz en piso.....	38
9.2 Evaluación del efecto del fotoperíodo	41
9.2.1 Tamaño testicular	41
9.2.1.1 Hámster sirio	41
9.2.1.2 Ratón de los volcanes	43
9.2.2 Histología testicular	47
9.2.2.1 Hámster sirio	47
9.2.2.2 Ratón de los volcanes	50
9.2.3 Concentración plasmática de testosterona.....	55
9.2.3.1 Hámster sirio	55
9.2.3.2 Ratón de los volcanes	56
9.2.4 Peso corporal	57
9.2.4.1 Hámster sirio	57
9.2.4.2 Ratón de los volcanes	58
10. DISCUSIÓN	59
10.1 Actividad locomotriz	59
10.2 Tamaño testicular	61
10.3 Histología testicular	64
10.4 Concentración plasmática de testosterona	65
10.5 Peso corporal	66
10.6 Consideraciones generales	68
11. CONCLUSIONES	70
12. ANEXO I: TÉCNICA HISTOLÓGICA.....	71
13. BIBLIOGRAFÍA	72

1. RESUMEN

Los mamíferos poseen adaptaciones fisiológicas y conductuales que tienden a incrementar la adecuación reproductiva en ambientes que varían estacionalmente. La longitud del fotoperíodo desempeña un papel importante en algunos mamíferos, permitiéndoles establecer el tiempo del año para regularizar sus ritmos biológicos anuales. El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*, Merriam, 1898), es un roedor endémico de México, de hábitos nocturnos, que presenta actividad reproductiva durante todo el año, con una mayor tasa de natalidad de abril a septiembre (Chávez, 2005). Debido a que es capaz de adaptarse favorablemente a las condiciones de cautiverio, es útil como animal de experimentación y ha sido empleado como modelo biológico en múltiples investigaciones, pero aún se desconocen aspectos importantes de su reproducción. El objetivo de este trabajo fue determinar si la biología reproductiva y la estructura del ritmo de actividad locomotriz en el macho del ratón de los volcanes, presenta una respuesta diferencial al fotoperíodo de días cortos y días largos como sucede en el hámster sirio (*Mesocricetus auratus*). Se utilizaron 10 ratones y 4 hámsteres sirios en ciclos de iluminación LO 08:16, y 10 ratones y 4 hámsteres en LO 16:08; empleando al hámster como control ya que su respuesta ante las variaciones en el fotoperíodo es ampliamente conocida. Los animales se mantuvieron durante tres meses en sus respectivos fotoperíodos bajo una intensidad luminosa de 280 lux, un rango de temperatura de 18-23°C y fueron alimentados con nutricubos (Rodent Lab Chow) y agua *ad libitum*. A seis de los diez ratones en cada fotoperíodo, se les registró crónicamente el ritmo de actividad locomotriz, mediante sensores infrarrojos, con el fin de determinar la relación entre la estructura del ritmo de actividad y el ciclo de LO. Los datos de actividad fueron analizados mediante el uso del programa DISPAC, graficados en actogramas dobles y en curvas de actividad promedio. En cuanto a las respuestas fisiológicas de los animales en su biología reproductiva, se evaluó el tamaño de ambos testículos sólo en cinco ratones al inicio del experimento, así como el peso corporal de todos los animales. Mientras que al finalizar los tres meses de exposición fotoperiódica, se evaluaron los siguientes parámetros: Tamaño de ambos testículos, estructura histológica testicular, concentración plasmática de testosterona y peso corporal. Los resultados obtenidos indican que en ambos ciclos de LO, existe actividad principalmente nocturna, con brotes de actividad durante la fase diurna, de tal manera que

durante el ciclo de LO 08:16 el tiempo de actividad promedio es superior (12.3 h), respecto al observado en LO 16:08 (10.7 h). Los hámsteres empleados durante el experimento mostraron que los fotoperíodos usados son efectivos para inducir la respuesta fotoperiódica. En el ratón de los volcanes, la talla testicular aumenta en días largos. Las medidas consideradas mostraron diferencias significativas en el largo y el ancho del testículo derecho y solamente en el largo del testículo izquierdo. La estructura histológica fue similar en los ratones de ambos fotoperíodos, manteniéndose activa la espermatogénesis. La concentración de testosterona no mostró diferencias significativas en ambos ciclos LO. Y el peso corporal se incrementó en los animales de ambos fotoperíodos, mostrando diferencias significativas únicamente en los animales del ciclo LO 08:16. Los resultados de este trabajo sugieren que el macho del ratón de los volcanes no muestra una respuesta diferencial en su reproducción de acuerdo con las variaciones en la longitud del fotoperíodo; sin embargo, podría presentar otro tipo de conductas estacionales.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 RITMOS BIOLÓGICOS

Un ritmo biológico es la recurrencia de un fenómeno biológico en intervalos regulares de tiempo (Aschoff, 1981). La ritmicidad es una característica fundamental de los seres vivos que se ha conservado en la escala filogenética, por lo que en todos los taxa se han documentado distintos ritmos biológicos que persisten aún en condiciones ambientales constantes, de tal modo que son endógenos.

De acuerdo con la frecuencia que presentan los ritmos, se han clasificado en: 1) Ritmos ultradianos: son aquellos que ocurren varias veces en un día con un período menor a 19 h (e.g. circamareales); 2) Ritmos circadianos: ciclos cuyo período es cercano a las 24 horas en un intervalo de 19 a 29 h; y, 3) Ritmos infradianos, con un período mayor a 29 h (e.g. circalunares y circanuales). El prefijo circa se emplea debido a que el período (τ) de los ritmos en condiciones constantes es aproximado -pero no igual- al período del ciclo ambiental con el que se sincronizan (T) (Revisado en Gruart, *et al.*, 2002).

Los ritmos circadianos han sido los más estudiados y el valor de su período (τ) les permite sincronizarse con los ritmos ambientales de 24 horas (T), como son los ciclos de luz y de temperatura. De tal manera que establecen una relación de fase (Ψ) con estos ciclos externos alargando o acortando el valor de su período e igualándolo al del ciclo ambiental ($\tau=T$).

Los ritmos circadianos se encuentran definidos por tres características básicas:

- 1) El ritmo es endógeno y persiste en condiciones constantes tanto de temperatura como de luminosidad, manteniendo un período cercano a 24 horas (ritmo en libre curso).
- 2) Los ritmos circadianos compensan los cambios de temperatura, por lo que el período del libre curso en un organismo varía muy poco ante un cambio ambiental de temperatura de 10° C, es decir, que posee un valor de Q_{10} cercano a 1.
- 3) Los ritmos circadianos pueden ser sincronizados por ciertos factores ambientales de 24 horas que son cíclicos, de tal forma que el período del ritmo iguala al del ciclo ambiental.

Estas tres características son de gran importancia, ya que la mayoría de los organismos en su hábitat no se encuentran en condiciones ambientales constantes como ocurre en el laboratorio.

Los ritmos circadianos se generan y regulan fisiológicamente por el sistema circadiano. Este sistema se encuentra estructurado por tres componentes básicos en todos los organismos: 1) Los osciladores y marcapasos biológicos que mantienen una periodicidad circadiana aún en ausencia de señales ambientales; 2) las vías de entrada hacia el marcapasos para recibir información de las señales ambientales cíclicas, de tal forma que pueda darse la sincronización del ritmo endógeno y, 3) las vías de salida del marcapasos (efectores) que muestran una respuesta en el organismo de acuerdo con las señales ambientales recibidas (Goldman, 1999).

Todos los organismos exhiben cambios diarios y estacionales en su fisiología y comportamiento, como ocurre en la actividad y el reposo, la alimentación, la conducta sexual, el peso corporal, el proceso de muda, la migración, hibernación, entre muchas otras. La ocurrencia de estas conductas se encuentra regulada temporalmente por osciladores circadianos internos, cuyas células contienen la maquinaria molecular necesaria para generar ritmos de aproximadamente 24 horas (Caldelas, 2006).

La organización temporal de los seres vivos permite su supervivencia, ya que pueden predecir y anticiparse a los cambios cíclicos ambientales (como la disponibilidad de alimento, precipitación, temperatura y fotoperíodo) al sincronizar sus ritmos endógenos.

En el caso de los mamíferos, el núcleo supraquiasmático (NSQ) es el “reloj” o marcapasos central del sistema circadiano, el cual se comunica con una gran variedad de osciladores periféricos en el interior y exterior del organismo para percibir los estímulos luminosos a través del eje retino hipotalámico.

La importancia del NSQ al generar los ritmos circadianos se esclareció desde los experimentos que demostraron lo siguiente:

Cuando se lesiona el núcleo supraquiasmático de los mamíferos, éstos manifiestan una desorganización en el patrón circadiano que caracteriza diversas conductas y procesos fisiológicos, y muestran además, incapacidad para responder ante las variaciones ambientales cíclicas; sin embargo, el transplante del NSQ fetal en los animales lesionados restablece algunos de los ritmos afectados por dicha lesión (Aguilar Roblero, *et al.*, 2004,

2004), aunque el fenotipo circadiano restaurado se encuentra determinado por el donador (Johnston, 2005).

Por otra parte, el NSQ presenta un ritmo intrínseco de su actividad eléctrica y metabólica, la cual persiste aún cuando los organismos se encuentran bajo condiciones de iluminación constantes e incluso cuando la actividad neuronal del NSQ se registra *in vitro*, lo que refleja la naturaleza endógena de esta ritmicidad. El registro simultáneo de varias neuronas del núcleo supraquiasmático en cultivo, muestra la capacidad de generar un patrón circadiano de actividad inherente a cada una de las neuronas, aunque las interacciones sinápticas dentro del núcleo parecen participar en el acoplamiento de los osciladores individuales. (Aguilar Roblero, *et al.*, 2004).

El núcleo supraquiasmático de los mamíferos se localiza en la porción ventral del hipotálamo anterior, ventrolateral al receso óptico del tercer ventrículo y dorsal al quiasma óptico (Figura 1). Se encuentra conformado por neuronas pequeñas (de entre 8 y 12 μm de diámetro) empaquetadas en forma muy compacta. Estas neuronas expresan diversas sustancias neuroactivas que se distribuyen en dos poblaciones, una dorsomedial y una ventrolateral, caracterizadas por la presencia de vasopresina y del péptido intestinal vasoactivo (VIP) respectivamente; además, la mayoría de las neuronas sintetizan ácido gama amino butírico o GABA (Aguilar Roblero, *et al.*, 2004).

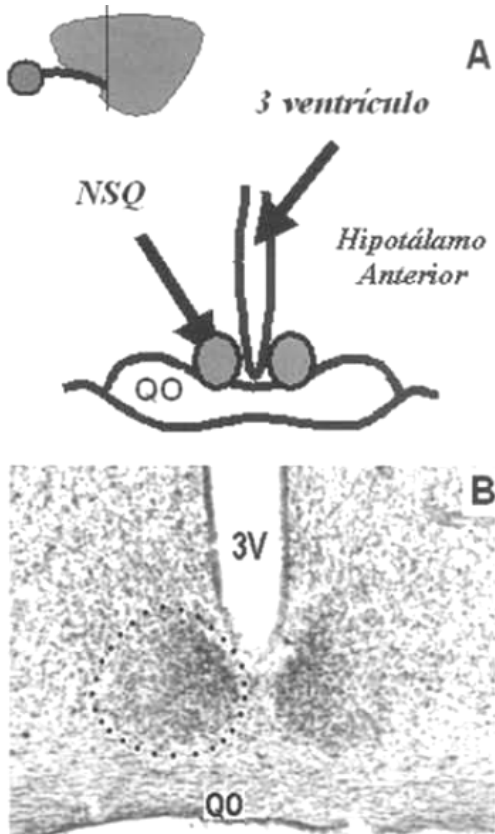


Figura 1. (A) Esquema de un corte coronal del hipotálamo de rata que muestra las relaciones anatómicas del NSQ, el nivel del corte está indicado en la vista lateral del cerebro. (B) Corte histológico teñido con la técnica de Nissl, las líneas punteadas indican el NSQ del lado derecho. 3V, tercer ventrículo; QO, quiasma óptico (Tomado de Aguilar Roblero, *et al.*, 2004)

2.2 FOTOPERIODISMO EN MAMÍFEROS

El fotoperíodo es un factor ambiental cíclico de gran importancia para algunos mamíferos, e interfiere directamente en sus respuestas fisiológicas y conductuales. De tal manera que el fotoperiodismo es un proceso por el cual, los organismos son capaces de emplear las horas de luz, así como la dirección en las variaciones de luminosidad, para establecer el tiempo del año y así regularizar sus ritmos biológicos anuales (Goldman, 1999, 2001).

En los mamíferos, la información luminosa es detectada por fotorreceptores visuales (conos y bastones) y no visuales, estos últimos se encuentran conformados por células ganglionares de la retina que contienen melanopsina (pigmento necesario para la adecuada sincronización de los ritmos a la luz). Los axones de estas células ganglionares forman el tracto retino-hipotalámico que llega a la porción ventrolateral del NSQ, liberando un

aminoácido excitador (probablemente glutamato o N-acetilaspargilglutamato) y el péptido hipofisiario activador de la adelinato ciclasa ó PCAP (Aguilar Roblero, *et al.*, 2004).

Algunas fibras colaterales del tracto retino-hipotalámico proyectan bilateralmente a una región del cuerpo geniculado lateral del tálamo llamada hojuela intergeniculada. A partir de la hojuela se origina otra aferente del NSQ denominada tracto genículo hipotalámico. Otras aferencias al supraquiasmático se originan en el núcleo de rafe y el núcleo paraventricular del tálamo (PVT). Tanto la hojuela intergeniculada (IGL) como el núcleo de rafe proyectan a la región ventrolateral del NSQ con fibras que contienen neuropéptido-Y y serotonina respectivamente. Estas aferentes también participan en la integración de la información del nivel de iluminación en el ambiente para ajustar el inicio de la actividad de los ritmos circadianos con el inicio de la oscuridad. También se ha propuesto que la IGL puede ser un relevo (junto con el PVT) para transmitir información no fótica hacia el NSQ. El PVT participa como modulador de la respuesta del NSQ a la luz; además de ser una vía de entrada de información visceral y de modalidades sensoriales no fóticas hacia el NSQ (Aguilar Roblero, *et al.*, 2004).

La información luminosa recibida por el NSQ se trasmite al resto del organismo a través de vías neurales y hormonales. El núcleo supraquiasmático secreta al menos tres péptidos (vasopresina arginina, factor de crecimiento tumoral (TGF- α) y procineticina II) directamente en el líquido cerebroespinal, controlando el ritmo de temperatura y el de actividad locomotriz. Las conexiones neurales entre el NSQ y los órganos periféricos son extensas e incluyen una vía multisináptica que se dirige hacia la glándula pineal, las glándulas adrenales, la tiroides, el corazón, el hígado y el páncreas. Dentro del cerebro, las proyecciones del NSQ hacia el núcleo preóptico magnocelular (POMA) generan el control sobre la liberación de hormonas gonadotropinas (GnRH) (Boden y Kennaway, 2006).

2.2.1 LA GLÁNDULA PINEAL Y EL FOTOPERIODISMO EN MAMÍFEROS

La pineal es la única glándula endocrina directamente influenciada por cambios ambientales externos, traduciendo las señales luminosas recibidas en mensajes neuroendocrinos (Pandi-Perumal, *et al.*, 2006; Aleandri, *et al.*, 1996), por lo cual desempeña una función importante en la respuesta fotoperiódica de los mamíferos al secretar la hormona melatonina.

La luz ambiental rige el ritmo de secreción de melatonina a través de una vía multisináptica que tiene su origen en la retina y se vincula con el núcleo supraquiasmático, por lo que la melatonina controla la actividad del NSQ y éste a su vez la secreción de esta hormona (Malpaux, *et al.*, 2001). La vía multisináptica que transmite la información luminosa desde la retina hacia el NSQ, incluye al núcleo paraventricular y al ganglio cervical superior. Las fibras noradrenérgicas que se originan de esta última estructura terminan en la pineal, de tal modo que estas fibras estimulan los receptores adrenérgicos α o β de los pinealocitos incrementando el cAMP y el cGMP intracelular. El incremento del cAMP influye en la actividad de la enzima *N*-acetiltransferasa (NAT), permitiendo que la serotonina (5-hidroxitriptamina), la cual es producida en dos pasos (hidroxilación y decarboxilación) a partir del triptófano en el pinealocito, sea convertida en *N*-acetilserotonina, dando lugar finalmente a la melatonina (5-metoxi-*N*-acetilriptamina) a través de la enzima hidroxindol *O*-metiltransferasa o HIOMT (Figura 2) (Aleandri, *et al.*, 1996).

El incremento en la actividad de la NAT durante la noche es el factor que limita la síntesis de melatonina (Aleandri, *et al.*, 1996). Por lo tanto, la síntesis de esta hormona presenta un ritmo circadiano, siendo mayor su concentración durante la noche (en ausencia de luz) que durante el día. Este patrón rítmico persiste en condiciones de oscuridad constante, independientemente de si el animal es diurno o nocturno (Illnerová, *et al.*, 2000); sin embargo, en condiciones de luz constante, se interrumpe la secreción de melatonina debido a que la acción de las enzimas NAT y HIOMT es inhibida (Pandi-Perumal, 2006).

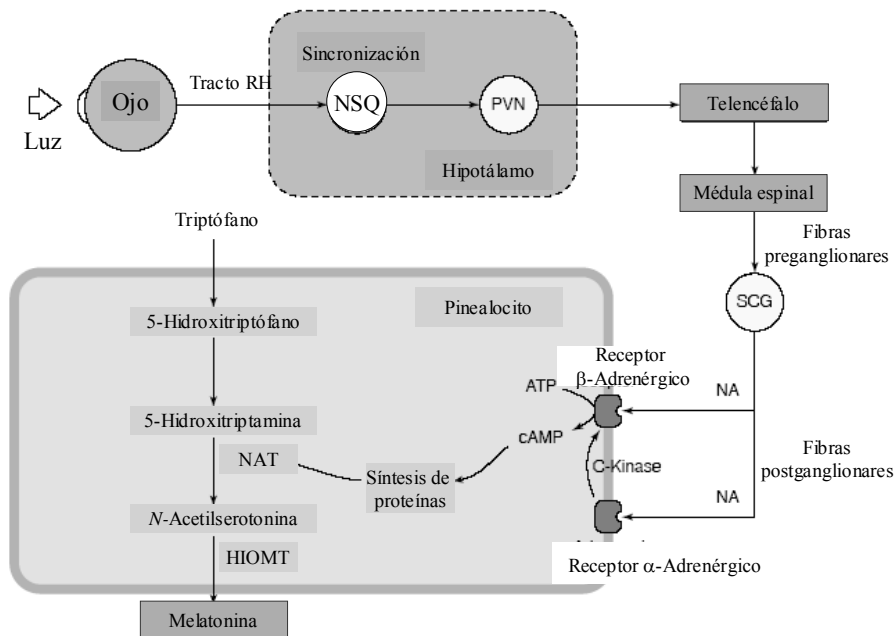


Figura 2. Diagrama que muestra los mecanismos que regulan la síntesis de melatonina. El ritmo de secreción es regulado por el núcleo supraquiasmático (NSQ) y sincronizado por la luz a través del tracto retino-hipotalámico (RH). La señal pasa a través del núcleo paraventricular (PVN), el telencéfalo, la médula espinal y el ganglio cervical superior hacia los receptores noradrenérgicos de la pineal (NA). Se señalan la enzima *N*-acetiltransferasa (NAT), así como la hidroxindole *O*-metiltransferasa (HIOMT) (Modificada de Arendt, 1998)

La síntesis de melatonina en los mamíferos es directamente proporcional a la duración de la fase oscura, por lo cual les brinda información acerca del tiempo del día y del año para regular sus respuestas fisiológicas y conductuales ante las variaciones estacionales en el fotoperíodo. Por lo cual, los organismos deben evaluar tres tipos de cambios en la concentración de melatonina: Primero, percibir que su concentración es mayor durante la noche que durante el día; segundo, detectar que la concentración de melatonina es mayor en los días cortos que en los días largos; y finalmente, evaluar los cambios que se dan en la concentración de esta hormona respecto a una exposición fotoperiódica previa, lo cual permite a los mamíferos manifestar una respuesta de días cortos o días largos (Malpaux, *et al.*, 2001).

Identificar los sitios en los que actúa la melatonina ha sido motivo de varias investigaciones ya que esta hormona regula distintas funciones fisiológicas. La melatonina podría actuar en un solo sitio del cerebro o de la hipófisis regulando muchas funciones

estacionales, o bien actuar en distintos sitios cada uno regulando una sola función. Además, se han encontrado receptores de melatonina en diversos tejidos del cuerpo (Malpoux, *et al.*, 2001). En el caso de los mamíferos el interés se ha centrado en el NSQ, el hipotálamo medio basal y la pars tuberalis, esta última es un sitio común en el que actúa la melatonina en todos los mamíferos (Goldman, 2001).

La importancia que tiene la glándula pineal en el fotoperiodismo de los mamíferos, se esclareció al observar que los animales pinealectomizados son incapaces de responder ante las variaciones fotoperiódicas que regulan sus ritmos estacionales, aunque otros ritmos circadianos permanezcan intactos; sin embargo, mediante la administración de melatonina en la concentración adecuada estos ritmos estacionales pueden reestructurarse. Por otra parte, se ha observado que en los animales expuestos a un esquema fotoperiódico de días largos (cuando las horas de luz son mayores a las horas de oscuridad) la melatonina administrada genera en los animales una respuesta típica de días cortos (cuando las horas de luz son menores a las horas de oscuridad), ya que la secreción endógena de esta hormona se adiciona con la melatonina exógena (Goldman, 2001).

2.2.2 EL SISTEMA CIRCADIANO Y LA MEDICIÓN DEL FOTOPERÍODO

En todos los mamíferos, la medición del ciclo de luz-oscuridad depende de la interacción entre este ciclo y los mecanismos circadianos endógenos, lo cual ha generado las hipótesis de los modelos de coincidencia externa e interna.

En los años sesenta, Bünning sugirió que el sistema circadiano se encuentra involucrado en el fotoperiodismo, lo cual ha sido corroborado por numerosos experimentos en diversos organismos. Bünning propuso el modelo de coincidencia externa, en el cual la luz sincroniza un ritmo circadiano e induce la respuesta fotoperiódica cuando coincide con la fase fotosensible del ciclo; esto sólo ocurre en cierto tiempo del año dentro de un rango específico de la duración del día (Goldman, *et al.*, 2004). En este modelo, la luz funge como un *zeitgeber* (vocablo de origen alemán que significa “dador de tiempo”) que sincroniza el sistema circadiano al actuar sobre una fase particular del ciclo, provocando así respuestas diferenciales de días largos o de días cortos (Goldman, 1999).

El modelo de coincidencia interna propuesto de manera independiente por Pittendrigh y Tyschenko en los años sesenta, postula que los cambios estacionales en la

duración del día alteran los patrones de sincronización de dos o más osciladores circadianos cuya relación de fase determina la ocurrencia de una respuesta de días cortos o de días largos, (Zucker, *et al.*, 2002). El modelo de coincidencia interna se basa en la evidencia de que el sistema circadiano de los vertebrados como los mamíferos, se encuentra conformado por múltiples osciladores circadianos, algunos de los cuales se encuentran acoplados al amanecer y otros al crepúsculo; consecuentemente, como el fotoperíodo varía estacionalmente, la relación de fase entre estos subsistemas también puede cambiar.

Múltiples experimentos han demostrado la validez del modelo de coincidencia interna, algunos de ellos, realizados con ratas de laboratorio, sugieren que existen dos osciladores circadianos que están involucrados en la secreción de melatonina, uno controla el inicio y el otro el término de la secreción en cada ciclo; la relación de fase entre estos dos osciladores puede determinar la duración de la secreción nocturna de esta hormona y en consecuencia la respuesta fotoperiódica del animal (Harmer, 2001). Otros experimentos han demostrado que el NSQ del hámster seccionado verticalmente (en vez de coronalmente, como se hace usualmente) exhibe dos picos de actividad neuronal, uno ligado al amanecer y el otro a las primeras horas del anochecer (Jagota, *et al.*, 2000).

2.2.3 HISTORIA FOTOPERIÓDICA: CAMBIOS EN LA DURACIÓN DEL DÍA

Las variaciones que presentan los animales en su fisiología y comportamiento ante los cambios en el fotoperíodo, no dependen únicamente de la duración absoluta de luz, sino también de la historia previa de los organismos y la dirección de los cambios en el fotoperíodo (Goldman, *et al.*, 2004), ya que el mismo ciclo de luz-oscuridad podría inducir una respuesta de días cortos o días largos dependiendo de la historia previa del animal. Esto es de gran importancia puesto que la longitud del fotoperíodo en la naturaleza se modifica de manera gradual y no abruptamente (Gorman, *et al.*, 2001).

2.2.4 FOTORREFRACTARIEDAD

Existen dos estados fisiológicos de gran importancia para regular los ritmos estacionales en todos los mamíferos fotoperiódicos: La fotosensibilidad y la fotorrefractariedad. En muchos animales, un período de sensibilidad en un ciclo particular de luz-oscuridad es seguido por un período de insensibilidad en el cual se dice que el animal es fotorrefractario.

La fotorrefractoriedad se define como el estado fisiológico en el cual un animal ya no es capaz de responder ante un ciclo particular de luz-oscuridad que previamente indujo en el organismo una respuesta (Turek y Losee, 1979). Cuando los animales se mantienen crónicamente en un fotoperíodo tienden a revertir su estado fisiológico, presentando la respuesta asociada con el fotoperíodo opuesto (Lincoln, *et al.*, 2005).

En los roedores que muestran estacionalidad en su fisiología y comportamiento, la exposición crónica a un fotoperíodo de días cortos da como resultado la regresión gonadal y el desarrollo de un fenotipo invernal en un intervalo aproximado de 12 semanas; sin embargo, después de este tiempo el organismo muestra el fenotipo característico del verano sin haberse modificado el fotoperíodo, por lo cual se dice que presenta fotorrefractoriedad a los días cortos (Lincoln, *et al.*, 2005) debido a la acción de un mecanismo neuroendocrino endógeno. Este mecanismo permite a los animales en su medio anticipar su fisiología antes de que inicie la primavera, sin necesidad de estar expuestos a un fotoperíodo de días largos.

En el caso de los mamíferos de mayor longevidad (e.g. ardillas, mustélidos, ovejas y ciervos), la exposición crónica a un fotoperíodo de días largos en algunas especies puede causar una reversión al estado fisiológico característico de invierno, mientras que en otras especies, los animales expuestos indefinidamente a un fotoperíodo de días largos son capaces de expresar estacionalidad en su fisiología en un intervalo de tiempo de 10 a 12 meses debido a un ritmo circanual endógeno (Lincoln, *et al.*, 2005).

2.3 RITMOS ESTACIONALES

Los mamíferos, al igual que otros organismos, muestran estacionalidad en su fisiología y comportamiento de acuerdo con variaciones ambientales en su medio. Los ritmos estacionales se pueden clasificar en dos tipos, los ritmos de Tipo I y los de Tipo II; sin embargo, algunos autores como Zucker, Lee y Dark (1991) proponen la existencia de los ritmos de Tipo III (Zucker, *et al.*, 2002).

Los ritmos de Tipo I (Figura 3a) son aquellos que a pesar de estar regulados por un reloj endógeno, no persisten más allá de un ciclo en ausencia de señales ambientales, tratándose esencialmente de variaciones en el fotoperíodo. Este tipo de ritmos se presenta comúnmente en mamíferos de poca longevidad que habitan en zonas templadas y boreales (Zucker, *et al.*, 2002).

RITMO TIPO I

componentes endógenos + componentes ambientales

(e.g. reproducción en el hámster)

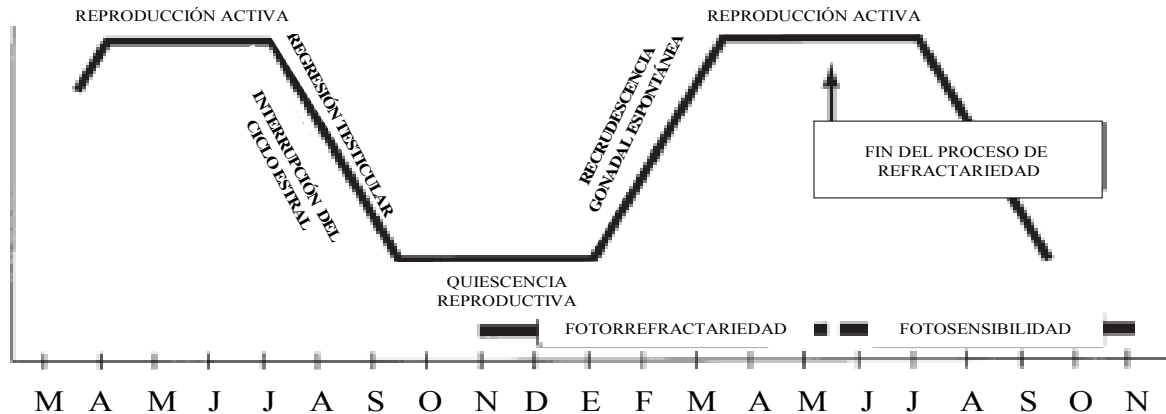


Figura 3a. Representación esquemática de un ritmo estacional de Tipo I. Este ritmo involucra componentes endógenos (sistema circadiano) y ambientales (fotoperíodo). En el esquema se observa que los días cortos inician la regresión gonadal en el hámster a finales del verano y eventualmente los animales muestran refractariedad, intervalo de tiempo en el que se da el crecimiento gonadal “espontáneo”. Posteriormente, los días largos de la primavera y el verano interrumpen la refractariedad y resensibilizan a los animales a los días cortos (Modificada de Zucker, *et al.*, 2002).

Los ritmos de Tipo II (Figura 3b), son aquellos completamente endógenos y persisten dos o más ciclos aún cuando el fotoperíodo, la temperatura, la humedad y la disponibilidad de alimento permanecen constantes durante todo el año. Estos ritmos circunales son característicos de animales longevos de varios órdenes, incluyendo primates, murciélagos, carnívoros, ungulados y roedores (Zucker, *et al.*, 2002).

Tanto los ritmos de Tipo I como los de Tipo II pueden sincronizarse con períodos de 12 meses por cambios estacionales en el fotoperíodo y otros factores ambientales. El hámster sirio (*Mesocricetus auratus*) y las ardillas voladoras doradas (*Spermophilus lateralis*) son las especies más estudiadas dentro de los ritmos de Tipo I y II respectivamente (Zucker, *et al.*, 2002).

RITMO TIPO II

exclusivamente componentes endógenos
(e.g. masa corporal en la ardilla voladora dorada)

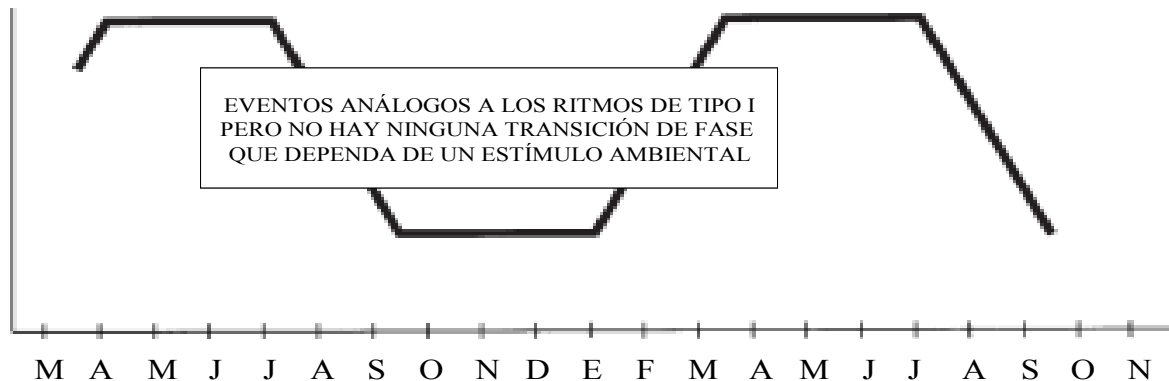


Figura 3b. Representación esquemática del ritmo estacional de Tipo II. Estos ritmos son exclusivamente endógenos y presentan un período menor a 12 meses; sin embargo, las variaciones estacionales en el fotoperíodo sincronizan estos ritmos a un período anual (Modificada de Zucker, *et al.*, 2002).

De acuerdo con Zucker, Lee y Dark, el ritmo estacional de Tipo III (Figura 3c) se basa estrictamente en un sistema de estímulo-respuesta. Las señales ambientales que se presentan en una época particular del año controlan los sistemas efectores que pueden o no estar regulados por el sistema circadiano. Un ejemplo de este tipo de ritmos, son las reacciones alérgicas producidas por vectores transportados por el viento y que producen fluido nasal e irritación en los ojos durante la estación de la fiebre el heno. (Zucker, *et al.*, 2002).

RITMO TIPO III

oscilación dependiente por completo de factores ambientales
(e.g. fiebre del heno)

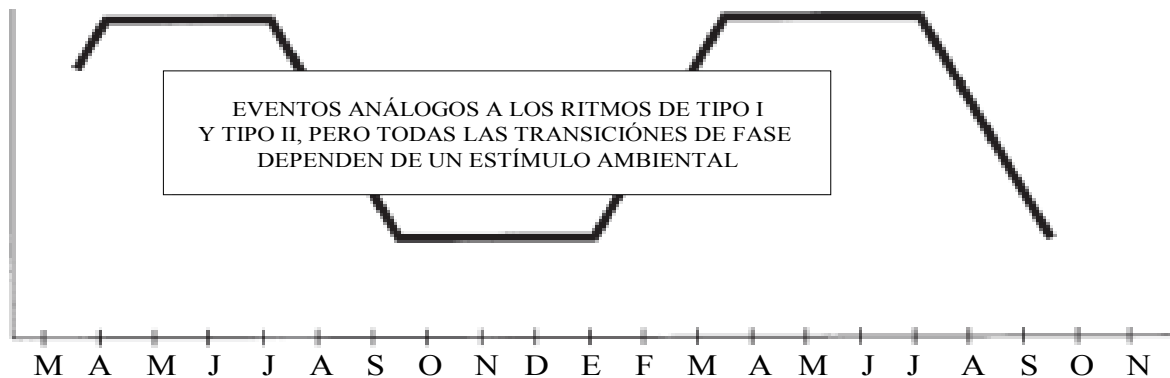


Figura 3c. Representación esquemática del ritmo estacional de Tipo III. Estos ritmos son exclusivamente exógenos, siendo resultado de estímulos ambientales (Modificada de Zucker, *et al.*, 2002).

2.4 FOTOPERIODISMO Y RITMOS CIRCANUALES EN LOS MAMÍFEROS

2.4.1 REPRODUCCIÓN

El sistema circadiano de los mamíferos interviene en la sincronización de los mecanismos de la reproducción acoplados a las señales ambientales como el fotoperíodo; lo que permite a los organismos de reproducción estacional obtener información acerca de la época del año (Goldman, 1999).

Los mamíferos, al igual que otros organismos, poseen adaptaciones fisiológicas y conductuales que tienden a incrementar la adecuación reproductiva en ambientes que varían estacionalmente (Gorman, *et al.*, 2001). Muchos animales muestran un patrón de reproducción estacional, por lo que el nacimiento y la lactancia se dan durante la estación del año más favorable para la supervivencia de las crías, generalmente durante la primavera o principios del verano, cuando los recursos son abundantes y se tienen los requerimientos energéticos necesarios. Es por ello que algunos autores proponen que la disponibilidad de alimento es el factor universal de mayor importancia en la reproducción, tal y como se observa en la Figura 4.

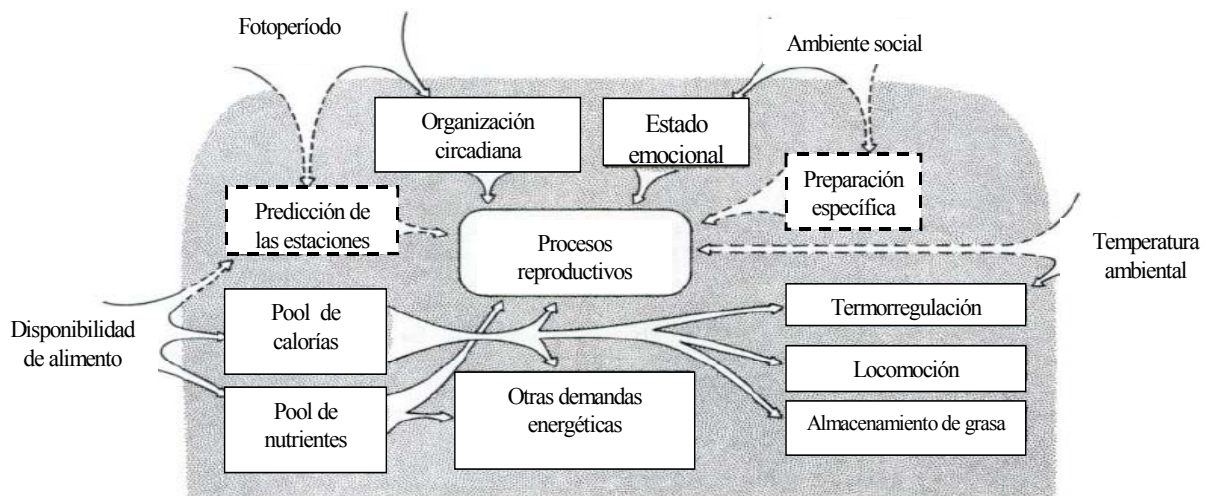


Figura 4. Factores que influyen en la reproducción de los mamíferos. Se señalan con líneas punteadas aquellos factores que influyen en algunos grupos de mamíferos y con líneas continuas aquellos factores que influyen en toda la clase. Asimismo, los factores que al parecer poseen mayor importancia se encuentran fuera del área oscura y las interacciones derivadas de estos factores ambientales se localizan en el área oscura (Bronson, 1985).

En los mamíferos cuyo tiempo de gestación es corto, como en el hámster que es de aproximadamente dos semanas, el desarrollo y las conductas sexuales se inician por variaciones en la longitud del fotoperíodo que indican el inicio de la primavera. Mientras que en animales de gran talla cuyo tiempo de gestación es largo, como en la oveja que es de veintiún semanas, la reproducción inicia a finales del verano e inicios del otoño, de tal manera que la gestación se lleva a cabo durante los meses de invierno y el parto ocurre en la primavera del siguiente año (Boden y Kennaway, 2006).

2.4.1.1 LA GLÁNDULA PINEAL Y LA REPRODUCCIÓN

La glándula pineal desempeña un papel importante en los mamíferos que se reproducen estacionalmente. En estos organismos la variación en la longitud del fotoperíodo genera ciclos reproductivos tanto en el macho como en la hembra, y la glándula pineal, cuya actividad endocrina se sincroniza por los ciclos de luz-oscuridad, regula los cambios estacionales en la reproducción de estas especies mediante la secreción de melatonina. La síntesis de esta hormona es mayor durante el invierno, cuando las noches son largas, que durante el verano, cuando las noches son cortas (Aleandri, *et al.*, 1996).

Los mamíferos que se reproducen durante los días largos, como el hámster sirio (*Mesocricetus auratus*), se mantienen activos reproductivamente durante el verano, mientras que en el invierno la función reproductiva disminuye al mínimo. La exposición de los hámsteres al fotoperíodo de días cortos, da como resultado la involución testicular en los machos y la ausencia de estro en la hembra; sin embargo, al finalizar la exposición a ese fotoperíodo los animales pueden reproducirse con normalidad. Asimismo, se ha determinado que la madurez sexual en el hámster siberiano (*Phodopus sungorus*) se retrasa cuando los animales se encuentran en un fotoperíodo de días cortos (Darrow, *et al.*, 1980). La pinealectomía, previene la regresión gonadal en los hámsteres en días cortos, aunque la administración de melatonina mimetiza los efectos del fotoperíodo sobre la función reproductiva interrumpiendo la liberación de hormonas gonadotrópicas (GnRH).

Mientras tanto, en los mamíferos que se reproducen durante los días cortos, como la oveja, la actividad reproductiva se presenta cuando disminuye la duración del día, en otoño e invierno. En estos animales, la melatonina ejerce un efecto estimulante sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Goldman, 1999). De acuerdo con estudios realizados en

ovejas lecheras pinealectomizadas, las infusiones de melatonina de larga duración, dan como resultado un incremento en la secreción de hormona luteinizante (LH).

Los sitios en los que actúa la melatonina al promover los cambios estacionales en la reproducción, aún no se encuentran bien definidos; sin embargo, en la mayoría de los mamíferos estudiados hasta la fecha, se han encontrado receptores de melatonina en la pars tuberalis de la hipófisis, y parece que es el sitio que presenta mayor afinidad a esta hormona en muchas especies. Sin embargo, también se han encontrado receptores en el NSQ, así como en otras áreas en el cerebro, mostrando variación interespecífica (Goldman, 1999). En cuanto a los receptores de melatonina, existen tres subtipos que tienen alta afinidad por esta hormona (MT1, MT2 y Mel1c), y uno (MT3) que presenta menor afinidad. Sin embargo, al parecer es el receptor MT1 el mediador de las funciones de la melatonina en los mamíferos, especialmente en la reproducción (Malpoux, *et al.*, 2001).

La melatonina actúa a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas inhibiendo al factor liberador de las hormonas gonadotrópicas (GnRH), y por lo tanto la síntesis y secreción de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), que a su vez regulan la actividad funcional de las gónadas (Pandi-Perumal, *et al.* 2006). Sin embargo, la glándula pineal también actúa directamente a nivel de las gónadas, ya que se han encontrado receptores de melatonina tanto en el testículo como en el ovario (Aleandri, *et al.*, 1996). En el caso específico de los machos, en el ratón y el hámster la melatonina actúa sobre las gónadas masculinas, inhibiendo la secreción de testosterona por las células de Leydig (Sirotkin y Schaeffer, 1997).

Cabe destacar que en el caso de los roedores, así como en otros mamíferos, la respuesta que presentan ante las variaciones en la longitud del fotoperíodo varía interespecíficamente, acorde con una base genética y fisiológica, así como con la historia fotoperiódica previa. Un ejemplo de esto último se ha observado en la oveja, ya que es posible estimular la secreción de la hormona luteinizante (LH) en animales previamente expuestos a 16 h de luz que se transfieren a un fotoperíodo con 13 h de luz; mientras que, la secreción de dicha hormona se interrumpe al cambiar a los animales previamente expuestos a 10 h de luz a 13 h de luz. Por lo que el mismo fotoperíodo produce distintos efectos de acuerdo con la historia previa de las ovejas.

2.4.2 ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ

El análisis de la actividad locomotriz ha sido de gran utilidad para el conocimiento de los ritmos biológicos, puesto que los cambios diarios que se generan en dicha conducta reflejan el comportamiento del sistema circadiano. El ritmo de actividad locomotriz puede sincronizarse con distintos ciclos ambientales, como el fotoperíodo, la temperatura y la disponibilidad de alimento.

En algunos roedores como *Microtus agrestis*, *M. oeconomus*, *M. montanus*, *Clethrionomys gapperi*, y *C. glareolus*, se han documentado cambios sorprendentes en sus patrones de actividad en el campo, presentando nocturnidad durante el verano y diurnidad en el invierno. Estos cambios podrían atribuirse a las variaciones estacionales de temperatura, ya que en el invierno los animales al presentar mayor actividad durante el día pueden evitar las bajas temperaturas de la noche; mientras que en el verano, al presentar mayor actividad durante la noche, los animales evitan enfrentarse al estrés térmico o la deshidratación debido a las altas temperaturas del día (Zucker, *et al.*, 2002).

2.4.3 PESO CORPORAL

Algunos mamíferos presentan variaciones estacionales en el peso corporal y el tejido adiposo, tanto blanco (siendo el principal depósito energético en mamíferos) como pardo (importante por su función termogénica), como una estrategia común para lidiar con la escasez de alimento en alguna época del año, principalmente durante el invierno. Estos cambios pueden presentarse como ritmos estacionales de Tipo I y de Tipo II.

En el caso de los mamíferos que presentan ritmos estacionales de Tipo I, el peso y el tejido adiposo varían principalmente en respuesta a los cambios anuales en el fotoperíodo. Algunos mamíferos acumulan reservas de grasa en el verano para resistir la escasez de alimento del invierno, así tienen reservas de energía y al mismo tiempo se incrementa el aislamiento térmico. El aumento de peso es común en los animales que hibernan, período durante el cual las reservas de grasa son oxidadas lentamente con el fin de proveer la energía esencial para su supervivencia durante el invierno, como ocurre en los roedores sciúridos (e.g. ardillas y marmotas). Por otro lado, algunos mamíferos reducen sus reservas de grasa antes del invierno como una estrategia para disminuir el consumo de energía, así como la necesidad de forrajear para mantener un peso mayor; sin embargo, la pérdida de

peso aumenta la proporción de superficie a volumen y el aislamiento térmico disminuye, lo cual también es compensado al reducir los requerimientos energéticos del animal (Zucker, *et al.*, 2002).

El hámster sirio (*Mesocricetus auratus*), el hámster siberiano (*Phodopus sungorus*) y el lemming de collar (*Dicrostonyx groenlandicus*), han sido tres de los modelos más utilizados para el estudio de las variaciones estacionales en el peso y el tejido adiposo. En el hámster sirio, al igual que en el lemming, los días cortos inducen un incremento en el peso sin deberse a una mayor ingesta de alimento; mientras que en el hámster siberiano, el fotoperíodo de días cortos ocasiona una disminución en el peso (Król, *et al.*, 2005).

La glándula pineal parece regular indirectamente las respuestas fotoperiódicas en el peso y el tejido adiposo de algunos mamíferos. La pinealectomía inhibe tales respuestas en el hámster siberiano y el ratón de campo; sin embargo, en el hámster sirio a pesar de la pinealectomía los animales aumentan de peso en respuesta al fotoperíodo de días cortos (Bartness, *et al.*, 2002). La melatonina parece actuar sobre el NSQ y el núcleo dorsomedial, cuyas eferencias a su vez inciden hacia el núcleo paraventricular regulando el balance energético (Morgan y Mercer, 2001).

Por otro lado, se piensa que hormonas como la testosterona, los estrógenos y la leptina, podrían actuar como intermediarias regulando los efectos de la melatonina en el balance energético; sin embargo, hasta la fecha no se tienen pruebas consistentes de ello. La testosterona y los estrógenos parecen no intervenir directamente sobre las fluctuaciones estacionales en el peso y el tejido adiposo, ya que los animales castrados expuestos a fotoperíodos de días cortos muestran una disminución o ganancia de peso similar a los animales intactos en el mismo fotoperíodo. En el hámster Siberiano los animales castrados pierden peso, lo cual se acentúa cuando se transfieren de un fotoperíodo de días largos a uno de días cortos. Lo mismo ocurre en el hámster Sirio, en el cual aumenta el peso después de la castración y más aún en días cortos. Asimismo, todos los animales castrados expuestos al fotoperíodo de días cortos, muestran las respuestas estacionales esperadas en días largos (Bartness, *et al.*, 2002).

La leptina es una hormona peptídica segregada principalmente por los adipocitos que desempeña un papel importante en la regulación del peso corporal. Los niveles de leptina circulantes están directamente relacionados con la adiposidad, pero ésta no es el

único factor determinante, ya que su concentración disminuye en condiciones de ayuno o restricción calórica y aumenta en respuesta a la ingesta de alimento (Moreno y Martínez, 2002). Los niveles reducidos de leptina inducen un incremento en la expresión hipotalámica de los genes conocidos como orexigénicos y suprime la expresión de aquellos genes anorexigénicos (Morgan, *et al.*, 2003), por lo que al ser baja la concentración circulante de esta hormona se incrementaría la ingesta de alimento y disminuiría en relación con concentraciones elevadas. Es por ello que el estudio de la leptina relacionada con las respuestas fotoperiódicas en el peso y tejido adiposo es importante; sin embargo, parece que la relación entre la leptina sobre el balance energético y la exposición fotoperiódica no son consistentes (Bartness, *et al.*, 2002).

En general, es probable que varias hormonas actúen como intermediarias regulando los efectos de la melatonina en la variación estacional del peso y del tejido adiposo, lo cual dificulta cómo explicar los cambios inducidos en función de una sola hormona. De manera alternativa, se ha planteado que la melatonina podría actuar en el tejido adiposo blanco y el pardo a través de las inervaciones de éstos tejidos por el sistema nervioso simpático (SNS), regulando la adiposidad estacional a través de este mecanismo (Bartness, *et al.*, 2002).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El ratón de los volcanes ha sido empleado desde hace varios años como animal de laboratorio; sin embargo, a pesar de que se han llevado a cabo múltiples estudios relacionados con su biología reproductiva, se desconoce a ciencia cierta cuál es el factor que regula el pico de reproducción de esta especie, ya que a pesar de que se reproduce durante todo el año, muestra una mayor tasa de natalidad de abril a septiembre (Chávez, 2005).

El fotoperíodo es un factor cíclico ambiental que regula directamente la reproducción estacional en algunos mamíferos, por lo que es probable que influya en la reproducción del ratón de los volcanes. Además, *Neotomodon alstoni alstoni* se encuentra emparentado filogenéticamente con roedores múridos como el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) cuya reproducción se rige de manera fotoperiódica.

4. ANTECEDENTES

4.1 BIOLOGÍA DEL RATÓN DE LOS VOLCANES

El ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni alstoni*, (Figura 5) es un roedor endémico de México descrito originalmente por Merriam en 1898. Desde entonces, su posición taxonómica ha sido motivo de controversia debido a la proximidad filogenética del género *Neotomodon* con el género *Peromyscus* (Villalpando *et al*, 2000); sin embargo, actualmente se sitúa dentro del orden Rodentia, familia Muridae y subfamilia Sigmodontinae (Chávez, 2005), distinguiéndose además tres subespecies dentro del género *Neotomodon*: *N. a. alstoni* para las poblaciones del Oeste del Río Balsas y la Sierra del Volcán Ajusco, *N. a. perotensis* para los ejemplares de Perote y *N. a. orizabae* para los del Pico de Orizaba (Carmona, 2006).



Figura 5. *Neotomodon alstoni alstoni* (Chávez, 2005)
Foto: Gerardo Ceballos

Neotomodon alstoni alstoni es un roedor de tamaño mediano, apariencia robusta y comportamiento dócil (Chavez, 2005). Posee un pelaje de coloración gris negruzca en el dorso, oscureciéndose más a lo largo de la columna vertebral, aunque el color varía según la estación del año a café castaño opaco. Hacia los lados del cuerpo presenta dominancia de color amarillo ocráceo y la región ventral es plumiza mezclada con blanco, y con pelo de

color amarillento en el pecho. Las muñecas, al igual que los tobillos, son negruzcos; mientras que las patas son blancas y su cola bicolor, siendo negruzca arriba y blanquecina por debajo (Estrada, 1978). Los juveniles presentan un pelaje de color gris uniforme (Chávez, 2005). En cuanto a su talla, las hembras adultas tienen un peso promedio de 53.2 g y llegan a medir 21.12 cm de longitud total y 11.89 cm de longitud corporal. Mientras que los machos pueden pesar en promedio 48.2 g. y llegar a medir 21.08 cm y 11.75 cm de longitud total y corporal, respectivamente (Estrada, 1978). La especie se distingue por presentar un tamaño mediano en comparación a miembros del género *Peromyscus*, la cola relativamente corta (menor que la cabeza y el cuerpo) (Chávez, 2005).

El ratón de los volcanes habita exclusivamente en el Eje Neovolcánico Transversal de México (Villalpando, *et al.*, 2000), situado entre los 18° y 22° latitud Norte con un rango altitudinal que oscila entre los 2,600 a 4,500 m sobre el nivel del mar (Luis, *et al.*, 2000). *Neotomodon alstoni alstoni*, habita al Oeste del alto Río Balsas (Río Atoyac), en los Estados de Puebla, Tlaxcala, Distrito Federal, Morelos y Michoacán (Davis y Follansbee, 1945).

El hábitat de este ratón se encuentra constituido por bosque mixto de pino y encino en las partes bajas; mientras que en las partes más altas está representado por asociaciones de pino y abeto, culminando cerca de la línea de nieve perpetua en bosque formado casi exclusivamente por pino. Además, la presencia de la gramínea “zacatón” en esta asociación parece ser el factor principal del hábitat de este ratón, ya que construye sus madrigueras principalmente entre las raíces de gramíneas amacolladas mostrando una preferencia de microhábitat en el zacatonal y el bosque-zacatonal. Se han identificado tres géneros de zacatón: *Stipa*, *Muhlenbergia* y *Festuca*. (Davis y Follansbee, 1945).

Es un roedor de hábitos nocturnos que inicia su actividad al atardecer y termina cerca de la media noche, con un máximo entre las 8 y las 9 de la noche. (Davis & Follansbee, 1945). Es un animal omnívoro que se alimenta de diversos vegetales como tallos, brotes y hojas herbáceas (Chávez, 2005); además de semillas, granos de polen e insectos.

El ratón de los volcanes es muy dócil y susceptible a reproducirse en condiciones de cautiverio. En condiciones naturales y en cautiverio se reproduce durante todo el año, con una mayor tasa de natalidad de abril a septiembre. Las hembras presentan varios ciclos

estrales al año, con una duración promedio de 4.5 días. Después de un período de gestación de 25 a 35 días tienen una camada de 3 crías en promedio. Los recién nacidos son desnudos, de color rosado y poseen vibrisas y pequeños pelos alrededor de la boca; miden de 5.28 a 5.7 cm y pesan alrededor de 3.8 gr. El período de lactancia es de 20 a 30 días. Estudios de este animal en el laboratorio, señalan que puede tratarse de una especie monogámica en la cual los machos exhiben cuidado parental (Luis, *et al.*, 2000).

El sistema de organización social en el ratón de los volcanes aún no ha sido entendido por completo, ya que los machos muestran subordinación hacia sus parejas en el cuidado parental (Luis *et al.*, 2000), mientras que entre los individuos del mismo sexo existe un comportamiento de jerarquización (Huereca, 2002).

Neotomodon alstoni alstoni ha sido utilizado como modelo biológico en investigaciones de genética, estudios de morfometría, ecología y aspectos taxonómicos, pero se conoce poco acerca de su biología reproductiva (Villalpando, *et al.*, 2000). Desde los primeros años en los cuales se estudió este ratón en cautiverio, demostró que podría ser un nuevo animal de experimentación debido a su extraordinaria docilidad, su facilidad de adaptación a las condiciones ordinarias de laboratorio, así como a su fertilidad y longevidad, apreciablemente más prolongada que en otros roedores comúnmente empleados en el laboratorio (Granados y Hoth, 1989), llegando a vivir hasta 5 años.

Por último, es importante mencionar que a pesar de que *Neotomodon alstoni alstoni* es una especie endémica de México no se encuentra en peligro de extinción. Presenta una distribución relativamente amplia, siendo abundante en localidades diversas con poblaciones en áreas naturales protegidas como los parques nacionales Popo-Izta y Nevado de Toluca (Chávez, 2005).

4.2 HISTOLOGÍA TESTICULAR Y ESPERMATOGÉNESIS EN EL RATÓN DE LOS VOLCANES

En todos los mamíferos, los testículos son órganos pares envueltos por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso llamada túnica albugínea, de la cual parten trabéculas al interior del testículo. Entre las trabéculas se localizan los túbulos seminíferos rodeados de tejido intersticial, que consiste de tejido conjuntivo laxo con vasos sanguíneos y linfáticos, células de Leydig y fibras nerviosas. Las células de Leydig secretan testosterona, y pueden

encontrarse aisladas o formando pequeños grupos en el tejido intersticial, son ovoides o irregulares, con núcleo esférico denso y citoplasma finamente granular y vacuolado (Uribe Aranzábal, 2002).

Al interior de los túbulos seminíferos, se producen los gametos masculinos mediante el proceso de espermatogénesis (Uribe Aranzábal, 2002). El epitelio seminífero está compuesto por dos tipos de células somáticas (células de Sertoli y células mioideas) y cinco tipos de células germinales (espermatogonias, espermátocitos primarios y secundarios, espermátidas y espermatozoides) (Setchell, 1982).

En los mamíferos, las células de Sertoli forman un epitelio de células alargadas e irregulares, con su base en la membrana basal y su extremo apical hacia la luz del túbulo seminífero. Su núcleo es basal, claro y esférico, con uno o dos nucléolos y muestran uniones intercelulares específicas que determinan la formación de la barrera de permeabilidad hemato-testicular. Esta barrera divide al túbulo seminífero en un estrato basal donde se localizan las espermatogonias, y un estrato adluminal donde ocurren las etapas avanzadas de la espermatogénesis y donde la concentración de andrógenos es mayor. Las células de Sertoli, además de constituir la barrera hemato-testicular, son de gran importancia para el desarrollo de las células germinales ya que las nutren, les sirven de sostén y fagocitan los cuerpos residuales (Uribe Aranzábal, 2002).

La espermatogénesis en los mamíferos es radial, de tal modo que va desde la membrana basal hacia la luz de los túbulos seminíferos (Setchell, 1982). Los estudios acerca del epitelio seminífero, han permitido reconocer los cambios que ocurren durante la espermatogénesis así como la dinámica del túbulo seminífero, es así como se conocen las asociaciones celulares de dicho epitelio, las cuales se suceden unas a otras a lo largo del túbulo. La secuencia completa de las diferentes asociaciones celulares se conoce como ciclo del epitelio seminífero (Beltrán, 1986).

En el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*), el ciclo del epitelio seminífero se encuentra conformado por seis estadios. Estos se establecieron en un estudio histológico realizado por Beltrán en 1986, en base al ciclo del epitelio seminífero de la rata, y se caracterizan por lo siguiente:

- Estadio V-VI. Presenta espermatogonias de tipo A y B, células de Sertoli, espermatocitos primarios en paquíteno, espermatidas en etapa de casquete y en un estado de madurez avanzado.
- Estadio VII. En esta etapa pueden observarse espermatogonias de tipo A, células de Sertoli, espermatocitos primarios, espermatidas y espermatozoides.
- Estadio IX. Esta etapa consta de espermatogonias de tipo B, células de Sertoli, espermatocitos primarios en un estado inicial de desarrollo así como en paquíteno y espermatidas en maduración empezando a elongarse.
- Estadio X-XI. Se caracteriza por la presencia de espermatogonias tipo A, espermatocitos primarios iniciando su división meiótica y en paquíteno, así como espermatidas en estado de madurez avanzado.
- Estadio XII-XIII. Esta etapa presenta espermatogonias de tipo A y B, espermatocitos en etapas iniciales de la meiosis, células de Sertoli, espermatocitos en leptóteno y paquíteno, y espermatozoides en la luz.
- Estadio XIV. Muestra espermatogonias de tipo A, células de Sertoli, espermatocitos primarios en etapas iniciales de la meiosis, espermatocitos primarios que están por dividirse para formar espermatocitos secundarios, espermatocitos secundarios y espermatidas.

5. JUSTIFICACIÓN

La trascendencia de este trabajo radica en enriquecer la información que se posee acerca de la biología general del ratón de los volcanes, especie de gran importancia por ser endémica de México. Además de contribuir al conocimiento de la reproducción de esta especie en cautiverio, con el fin de generar colonias útiles para investigaciones posteriores.

6. HIPÓTESIS

Si el ratón de los volcanes fuera una especie cuya reproducción puede inducirse por cambios en la duración del día, de manera similar a como ocurre en el hámster sirio, entonces los animales expuestos al fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) mostrarían disminución en la talla gonadal, así como interrupción en el proceso de espermatogénesis, incremento en el peso corporal y niveles reducidos en la concentración de testosterona en el plasma sanguíneo. Mientras que los animales expuestos al fotoperíodo de días largos (LO 16:08) presentarían la respuesta contraria.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

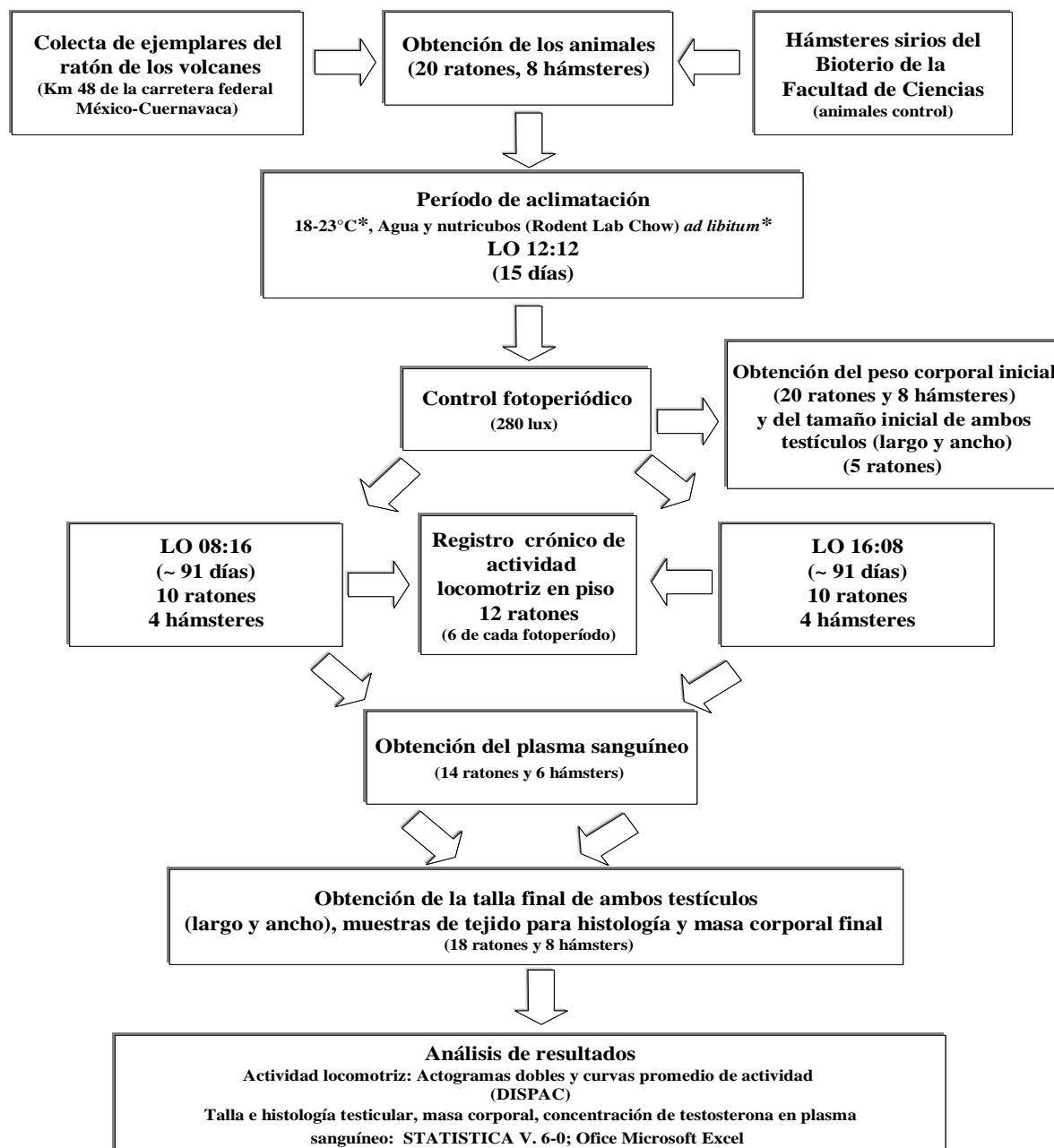
Determinar si la reproducción en el macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni alstoni*, presenta una respuesta diferencial al fotoperíodo de días largos (LO 16:08) y de días cortos (LO 08:16).

7.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Ampliar el conocimiento que se tiene acerca de la biología reproductiva del macho del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*).
2. Evaluar la sincronización del ritmo de actividad locomotriz de los animales con el ciclo de luz-oscuridad de días cortos y días largos.
3. Determinar si existen cambios inducidos por el fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) o días largos (LO 16:08) en la talla y estructura histológica testicular.
4. Evaluar la respuesta de los animales en el peso corporal acorde al fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) o días largos (LO 16:08).
5. Determinar el efecto del fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) o días largos (LO 16:08) en la concentración plasmática de testosterona de los animales.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

En el siguiente diagrama se describe de manera global la metodología que se llevó a cabo en este trabajo, misma que se detalla en los siguientes párrafos.



*Condiciones mantenidas durante todo el tiempo que duró el experimento.

8.1 OBTENCIÓN , CUIDADO Y MANTENIMIENTO DE LOS ANIMALES

En este trabajo, se utilizaron veinte machos del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) y ocho machos de hámster sirio (*Mesocricetus auratus*).

Para obtener los ratones se llevó a cabo una colecta los días 8 y 9 de mayo de 2007 en una zona de la Sierra del Volcán Ajusco, ubicada en la localidad correspondiente al Km 48 de la Carretera Federal México-Cuernavaca, cerca del poblado de Parres, localizado a 20 Km al Sur de la Ciudad de México y con una rango altitudinal de 2440 a 4500 msnm (Carmona, 2006). Los animales se capturaron mediante trampas *Sherman* para roedores pequeños empleando como cebo hojuelas de avena. Durante la colecta se emplearon alrededor de cincuenta y dos trampas, capturando un total de veintisiete animales, de los cuales dieciséis fueron hembras y once machos. Los animales se transportaron al Bioterio de la Facultad de Ciencias (BFC) inmediatamente después de su captura, donde fueron desparasitados, sexados y mantenidos en aclimatación durante aproximadamente dos semanas, bajo condiciones de temperatura ambiental del Bioterio (18-23 ° C) y un ciclo de LO 12:12, alimentándose con nutricubos Rodent Laboratory* y agua *ad libitum*.

Además de los once machos obtenidos durante la colecta, se emplearon otros diez animales capturados a principios del mes de abril, los cuales se mantuvieron bajo las mismas condiciones fotoperiódicas, de temperatura y alimentación hasta el momento en que inició el experimento.

En el caso del hámster sirio, los ocho machos utilizados se obtuvieron en el BFC. Estos animales se encontraban bajo condiciones de temperatura ambiental del Bioterio (18-23°C) y fotoperíodo LO 12:12, alimentados con nutricubos y agua *ad libitum*. Los hámsteres se utilizaron como control, ya que es amplio el conocimiento que existe acerca de la influencia del fotoperíodo en la maduración testicular de estos animales, de tal manera que resultan un marco de referencia útil para corroborar la eficacia de los ciclos de luz-oscuridad empleados durante la experimentación.

Una vez que se obtuvieron todos animales, fueron trasladados a un cuarto aislado y oscuro dentro del BFC, en el cual se llevó a cabo el control fotoperiódico de días cortos y días largos así como el registro crónico de actividad locomotriz en piso.

8.2 CONTROL FOTOPERIÓDICO Y REGISTRO CRÓNICO DE ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ EN PISO

Esta etapa tuvo una duración aproximada de tres meses (~91 días), iniciando el día 22 de mayo de 2007 y finalizando el 21 de agosto del mismo año. Durante este tiempo, los animales se dividieron en dos grupos, uno de los cuales se mantuvo bajo un ciclo de luz-oscuridad de días cortos (LO 08:16) y otro en un ciclo de días largos (LO 16:08). Todos los animales estuvieron bajo temperatura ambiental del Bioterio (18-23°C) y fueron alimentados con nutricubos y agua *ad libitum*, durante el tiempo que duró la experimentación.

Los animales fueron colocados individualmente o en parejas, en jaulas metálicas de dimensiones de 28.5 cm x 21 cm x 15 cm y/o en acuarios de vidrio de 30 cm x 18 cm x 20 cm (Figura 6). Ambos contenedores tenían una malla de alambre en la parte inferior, facilitando la limpieza de los animales, ya que sus desechos caían directamente sobre una capa de aserrín situada en una lámina corrediza debajo de las jaulas. Además, cada contenedor permitió situar en paralelo dos barras de sensores infrarrojos para el registro crónico de actividad locomotriz en piso de doce ratones aislados de manera individual, seis de cada fotoperíodo. El desplazamiento de los animales en piso interrumpía el foto sensor mandando la señal a una computadora de escritorio que se encargaba de sumar y almacenar la información en bloques de 10 minutos, mediante el programa de cómputo RALM15. Durante los tres meses que duró el registro, se guardaron los datos de actividad locomotriz cada dos semanas, determinando así la respuesta de sincronización de los animales al fotoperíodo correspondiente. Los datos obtenidos por individuo, se convirtieron y analizaron mediante actogramas de doble gráfica generados con el programa de cómputo DISPAC (IFC, UNAM), en los cuales fue posible observar de manera gráfica los datos de actividad durante una serie de tiempo. El actograma se utilizó para construir una curva promedio de actividad, así como para determinar la relación de fase de cada organismo.

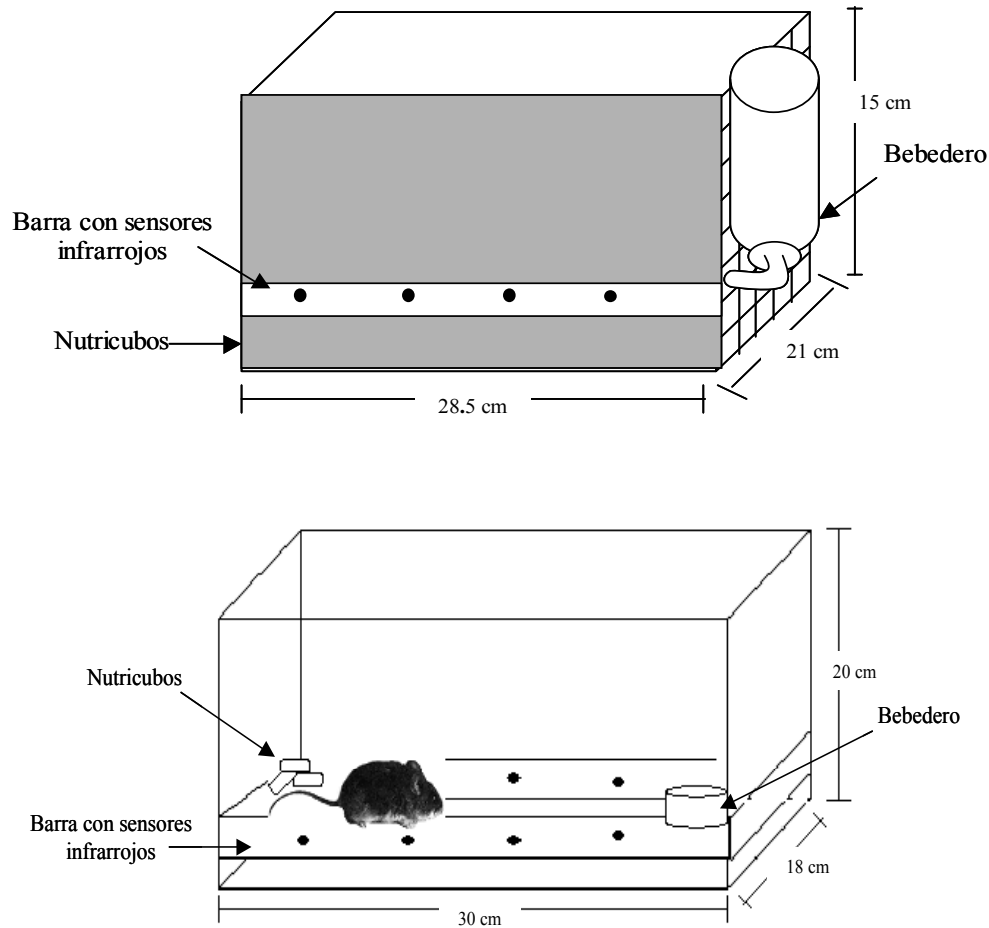


Figura 6. Contenedores donde se mantuvieron los animales durante el registro de actividad locomotriz en piso. Arriba se representa una jaula metálica y abajo un acuario.

El grupo de animales que se mantuvo en el fotoperíodo de días largos (LO 16:08), estuvo integrado por cuatro hámsteres y diez ratones (cinco de los animales colectados en abril y cinco en mayo). De estos animales, se llevó a cabo el registro de actividad locomotriz de tres ratones colectados en abril y tres en mayo. En un anaquel metálico con seis compartimientos (Figura 7), cada uno con la capacidad de alojar dos jaulas de aluminio colocadas alternadamente, se distribuyeron diez ratones de los volcanes (cinco de los animales colectados en abril y cinco de los capturados en mayo) y cuatro hámsteres sirios. En el primer compartimiento se encontraba un ratón de los colectados en abril así como dos hámsteres (éstos últimos compartían la misma jaula); en el segundo, tercero, cuarto y quinto compartimientos se alojaron dos ratones (uno de los

animales capturados en abril y el otro en mayo); mientras que en el sexto compartimento se ubicó a un ratón de los colectados en abril así como dos hámsteres (estos últimos en una misma jaula). Todos los animales del anaquel estuvieron expuestos a un ciclo de LO 16:08 dado por un sistema de lámparas marca Phillips (F48T12/D, 39 W) montadas en un marco de madera, colocado a 1 m de distancia, emitiendo una intensidad luminosa aproximada a 280 lux. Las lámparas de dicho sistema estaban conectadas a un interruptor programable doméstico (Timer), el cual se encargaba de encender las lámparas a las 04:00 h y apagarlas a las 20:00 h. El anaquel se cubría totalmente con cortinas impermeables a la luz, aunque no se impedía del todo la entrada de luz exterior, es por ello que este sistema fue elegido para mantener a los animales en el fotoperíodo de días largos, ya que en el tiempo que los animales permanecían en oscuridad (de las 20:00 h a las 04:00 h) no había luz natural ni artificial proveniente de otros cuartos del Bioterio que interfiriera con el control fotoperiódico.

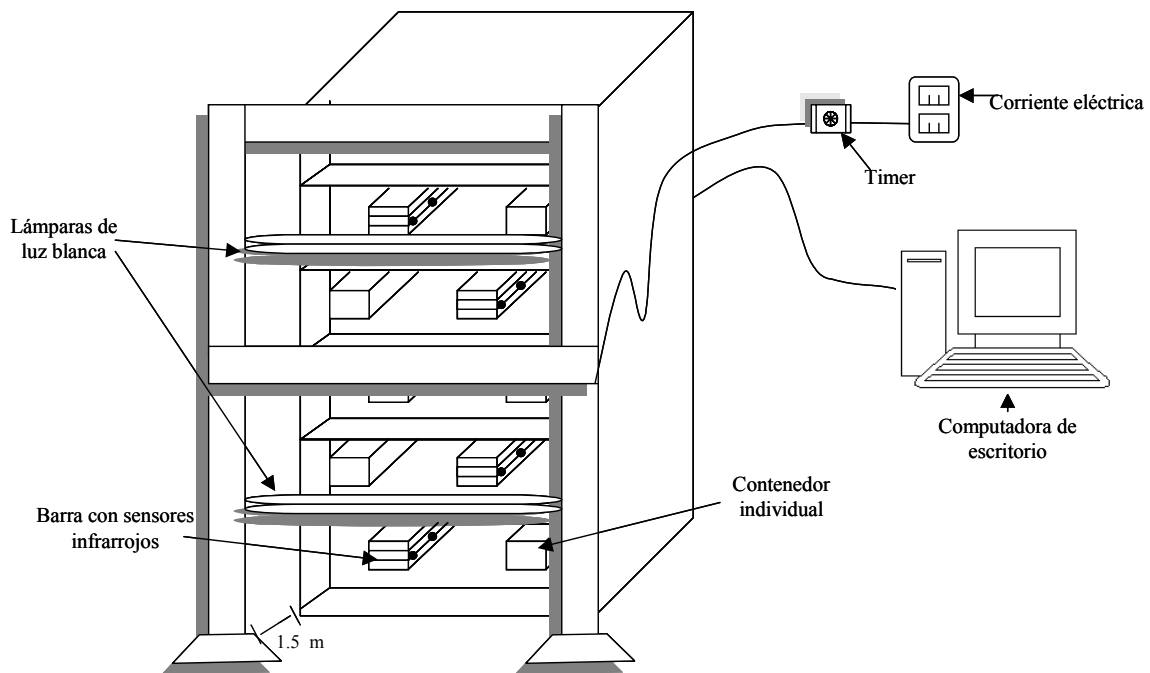


Figura 7. Anaquel metálico para el control fotoperiódico de 14 individuos en ciclo de LO 16:08. En el diagrama se muestra el equipo necesario para el registro de actividad locomotriz de seis ratones.

El segundo grupo de animales que permaneció en un fotoperíodo de días cortos (LO 08:16), también estuvo integrado por cuatro hámsteres y diez ratones (cinco de los animales colectados en abril y cinco en mayo). De estos animales, se llevó a cabo el registro crónico de actividad locomotriz de seis ratones, dos de los animales colectados en abril y cuatro en mayo. El sistema de registro empleado para este grupo, así como el modo de analizar los resultados, fue el mismo que se utilizó para el grupo de fotoperíodo de días largos.

Los animales de este grupo se distribuyeron en un gabinete de madera aislado de la luz externa y dividido en cuatro compartimientos (Figura 8), de la siguiente manera: Tanto en el primer apartado como en el segundo se colocaron dos ratones, uno de los cuales fue colectado en abril y el otro en mayo; en el tercer apartado se introdujeron dos ratones colectados en abril y uno en mayo, así como dos hámsteres (estos últimos en la misma jaula); y, en el cuarto compartimiento se colocaron dos ratones colectados en mayo y uno en abril, así como dos hámsteres (estos últimos en la misma jaula). Todos los animales distribuidos en el gabinete se mantuvieron con un sistema de ventilación artificial y bajo un esquema fotoperiódico de días cortos (LO 08:16), gracias a un sistema de lámparas marca Phillips (F20T12/D, 20 W) emitiendo una intensidad luminosa de 280 lux bajo el control de un interruptor programable doméstico (Timer), el cual encendía las lámparas a las 08:00 h y las apagaba a las 16:00 h.

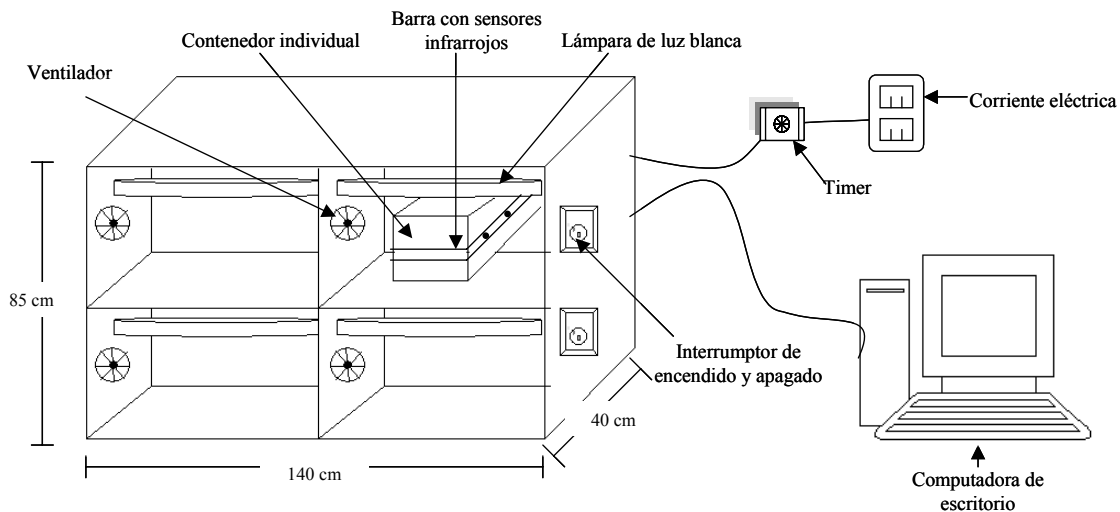


Figura 8. Gabinete de madera para el control fotoperiódico de 14 individuos en ciclo de LO 08:16. En el diagrama se muestra el equipo necesario para el registro de actividad locomotriz de seis ratones.

Al concluir los tres meses de exposición fotoperiódica, se evaluó la respuesta de los animales en distintos factores como la talla e histología testicular, el peso corporal y la concentración plasmática de testosterona.

8.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL FOTOPERÍODO

8.3.1 TAMAÑO TESTICULAR

El tamaño de ambos testículos se obtuvo al iniciar y al finalizar el experimento. Para ello, cinco ratones de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) se establecieron como población control antes de someterlos al fotoperíodo de días cortos y/o de días largos, mientras que los ocho hámsteres dorados (*Mesocricetus auratus*) fungieron como su propio control.

El tamaño testicular fue determinado por exposición externa de los testículos mediante una cirugía escrotal. Los animales fueron anestesiados con una mezcla de Sulfato de Atropina (0.01 ml), Xilacina (7 mg/kg/vía intramuscular), Pentobarbital (20 mg/kg/vía intraperitoneal) y Ketamina (40 mg/kg/vía intramuscular).

Después de la inducción de la anestesia, la región perineal de los ratones fue rasurada y desinfectada con Cloruro de Benzalconio. Inmediatamente, se realizó una pequeña incisión en la piel escrotal y sobre la túnica albugínea para extraer el testículo. Una vez expuesto, se midió el largo y ancho de éste con la ayuda de un vernier. Posteriormente, el testículo y el epidídimo fueron introducidos nuevamente a la cavidad escrotal, y finalmente la túnica albugínea se suturó con hilo absorbible (Catgut 5-0), mientras que la piel escrotal fue suturada con hilo no absorbible (Seda Trenzada 5-0).

De los ratones muestreados como población control, dos de ellos se mantuvieron en fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) y otros dos en fotoperíodo de días largos (LO 16:08), mientras que el quinto individuo no pudo incluirse en el experimento. Estos cuatro animales, así como el resto de los ratones, fueron sometidos nuevamente a una cirugía escrotal al finalizar los tres meses de exposición fotoperiódica de días cortos o días largos.

En el caso de los hámsteres sirios (*Mesocricetus auratus*), inicialmente éstos no fueron sometidos a una cirugía escrotal, y el largo y el ancho de ambos testículos se determinó protruyendo el testículo sobre la piel escrotal; sin embargo, al finalizar los tres meses en sus

respectivos fotoperíodos sí se llevó a cabo la cirugía antes mencionada, con la finalidad de evitar errores de medición. El procedimiento efectuado durante la cirugía fue similar al que se utilizó en el caso del ratón de los volcanes.

8.3.2 HISTOLOGÍA TESTICULAR

Después de tres meses de exposición a los fotoperíodos, a todos los animales se les realizó una cirugía escrotal para determinar la talla testicular. Una vez cuantificado el largo y ancho de ambos testículos, el testículo derecho fue introducido nuevamente a la cavidad escrotal, mientras que el testículo izquierdo fue extirpado para su procesamiento histológico por técnicas convencionales (Anexo I). Una vez finalizada la técnica, las preparaciones histológicas del tejido se observaron con un microscopio óptico biocular de contraste de fases, determinando las estructuras observadas y eligiendo algunos campos representativos para la toma de fotomicrografías en microscopía de campo claro con el uso de un Fotomicroscopio Olympus (Modelo Provis Ax70). Asimismo, se obtuvo el diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos cortados transversalmente, tanto en el ratón de los volcanes como en el hámster sirio.

8.3.3 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE TESTOSTERONA

Todos los animales que permanecieron en los fotoperíodos (LO 08:16 o LO16:08), sin período de ayuno previo, fueron anestesiados con éter etílico (dosis/efecto) para obtener muestras sanguíneas del seno retroorbital en tubos capilares con heparina. Estos tubos se centrifugaron a 3500 *rpm* durante 5 minutos. Después de la centrifugación se obtuvieron muestras de 200µl de plasma e inmediatamente se almacenaron a -40°C. Antes de realizar las determinaciones el plasma se descongeló a temperatura ambiente. Los niveles plasmáticos de testosterona fueron cuantificados por radioinmunoanálisis empleando un juego de reactivos Coat-A-Count testosterona total (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, U.S.A.) siguiendo los procedimientos descritos previamente para este método (Demetriou, 1987).

8.3.4 PESO CORPORAL

El peso de todos los animales, se obtuvo al iniciar y finalizar la exposición fotoperiódica mediante una báscula de cestilla, de tal manera que los animales fungieron como su propio control en ambos tratamientos fotoperiódicos (LO 08:16, LO16:08).

8.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Todos los datos obtenidos al evaluar los distintos parámetros, se ordenaron y analizaron mediante los programas de cómputo Microsoft Excel y STATISTICA 6.0 (StatSoft), comparando por t de Student los valores iniciales y finales al terminar la exposición fotoperiódica.

En el caso del tamaño testicular se compararon los valores del largo y ancho de ambos testículos en cada fotoperíodo (en todos los animales), así como entre las medidas obtenidas en la población inicial (sólo en el caso del ratón de los volcanes). Los datos de los diámetros de los túbulos seminíferos, los de la concentración plasmática de testosterona, así como los del peso corporal fueron comparados entre cada fotoperíodo para todos los animales. Adicionalmente, se comparó el peso corporal inicial con el obtenido al finalizar la exposición fotoperiódica.

9. RESULTADOS

9.1 CONTROL FOTOPERIÓDICO Y REGISTRO CRÓNICO DE ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ EN PISO

En la Figura 9 se muestran dos actogramas de doble gráfica que representan la estructura del ritmo de actividad locomotriz (en piso) de dos ratones mantenidos en el fotoperíodo de días cortos, así como sus respectivas curvas de actividad promedio.

En los actogramas de la Figura 9, se puede observar que durante los primeros días de registro los animales pasaron por un período de ajuste al ciclo de LO 08:16, de tal manera que se dan varios días de transición hasta que finalmente el animal se sincroniza con el fotoperíodo (veinte días en el organismo de la figura 9 A, y diez días en el de la figura 9 B). Después de este período de ajuste, los organismos presentan un mayor grado de actividad en la fase oscura, iniciando cada día aproximadamente a la misma hora conforme al apagado de la luz.

De acuerdo con lo observado en los actogramas y en las curvas de actividad promedio (Figuras 9 A – 9 D), los ratones mostraron actividad principalmente nocturna, con brotes de actividad durante la fase diurna. Así, los animales que se mantuvieron durante el fotoperíodo de días cortos tuvieron un promedio de actividad de 12.3 h. (± 1.96 h.); mientras que la relación de fase con el apagado de la luz fue de -2.63 h. (± 1.5 h.), lo cual significa que los animales empezaban su actividad poco antes del inicio de la oscuridad.

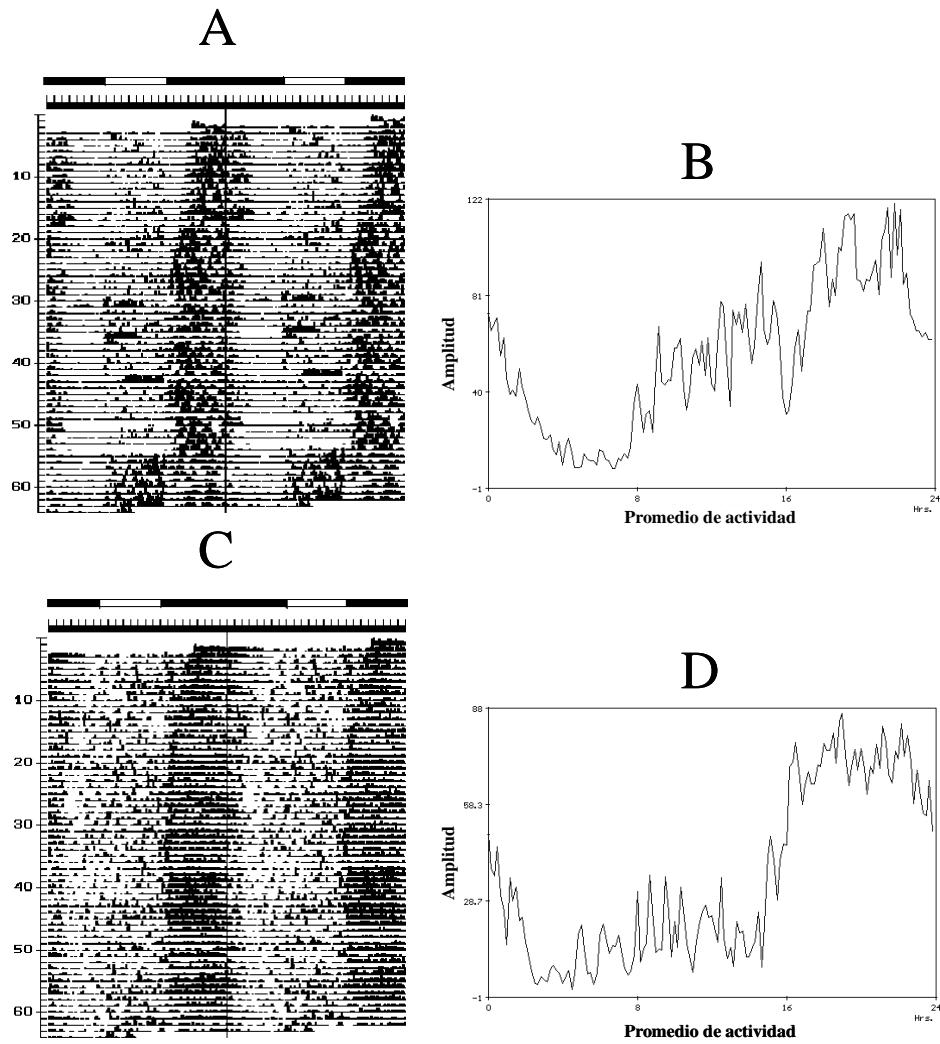


Figura 9. A y C muestran actogramas de doble gráfica que presentan la actividad locomotriz en piso de dos ratones de los volcanes en ciclo LO 08:16. La barra superior indica la fase de oscuridad (sección negra), así como la fase luminosa (sección blanca) y los números a la izquierda señalan los días de exposición fotoperiódica. Nótese los días de transición de ajuste al fotoperíodo. B y D muestran las curvas de la actividad promedio de los actogramas A y C, respectivamente.

Por otro lado, los actogramas de la Figura 10 muestran la estructura del ritmo de actividad locomotriz (en piso) de dos ratones en fotoperíodo de días largos, así como sus respectivas curvas de actividad promedio.

En ambos actogramas (Figuras 10 A y 10 C) es posible notar que los animales muestran un período de ajuste al ciclo de LO 16:08, tomándoles menos de diez días de transición hasta que finalmente el animal se sincroniza con el fotoperíodo. Después de este período de ajuste, los organismos presentan actividad tanto en la fase luminosa como en la oscura.

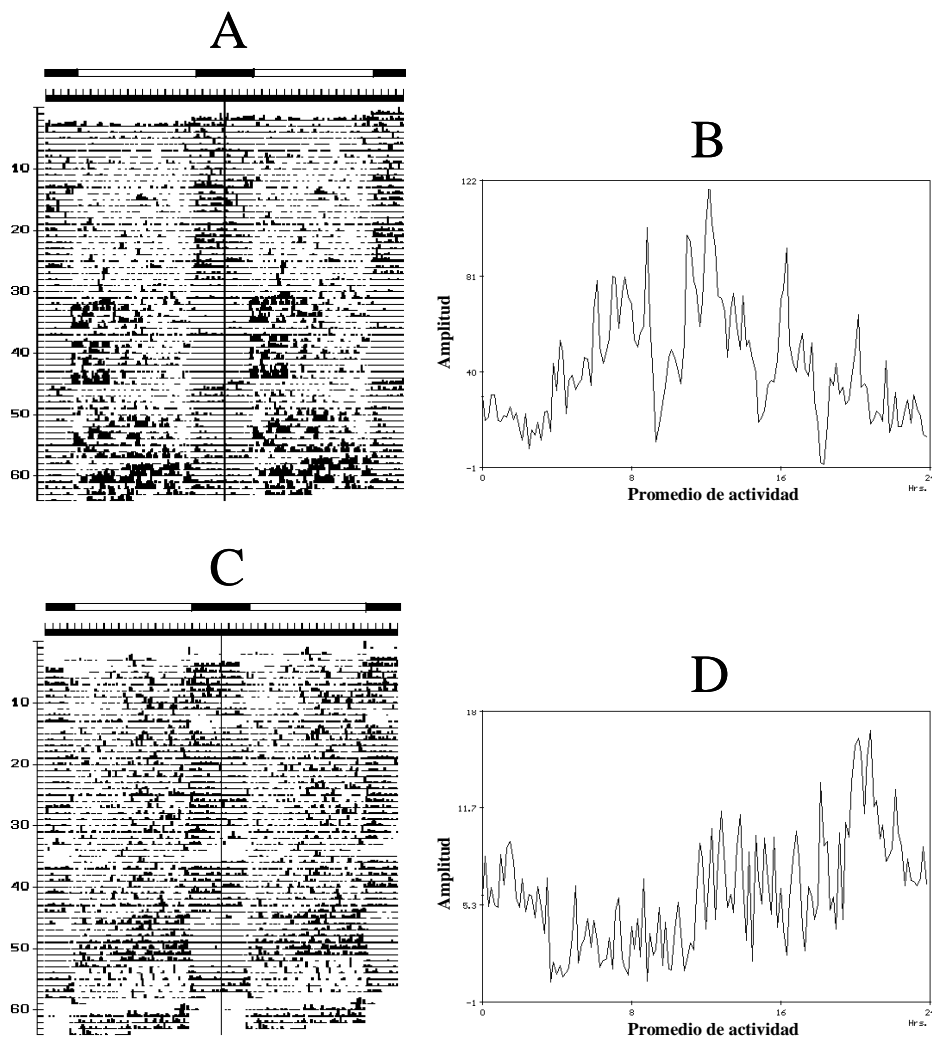


Fig. 10. A y C muestran actogramas de doble gráfica que presentan la actividad locomotriz en piso de dos ratones de los volcanes en ciclo LO 16:08. La barra superior indica la fase de oscuridad (sección negra), así como la fase luminosa (sección blanca) y los números a la izquierda señalan los días de exposición fotoperiódica. Nótese los días de transición de ajuste al fotoperíodo. B y D muestran las curvas de la actividad promedio de los actogramas A y C, respectivamente.

De acuerdo con lo observado en los actogramas así como en las curvas de actividad promedio (Figuras 10 A – 10 D), los ratones se mantuvieron activos tanto en la fase luminosa como en la oscura, mostrando una actividad promedio de 10.7 h. (± 1.5 h.); mientras que la relación de fase con el apagado de la luz fue de -5.9 h. (± 2.6 h.), lo cual significa que los animales empezaban su actividad antes del inicio de la oscuridad.

A pesar de que las horas de actividad promedio y la relación de fase con el apagado difieren entre los animales que se mantuvieron en el fotoperíodo de días cortos con respecto a los del fotoperíodo de días largos, no existen diferencias significativas entre ambos grupos.

9.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL FOTOPERÍODO

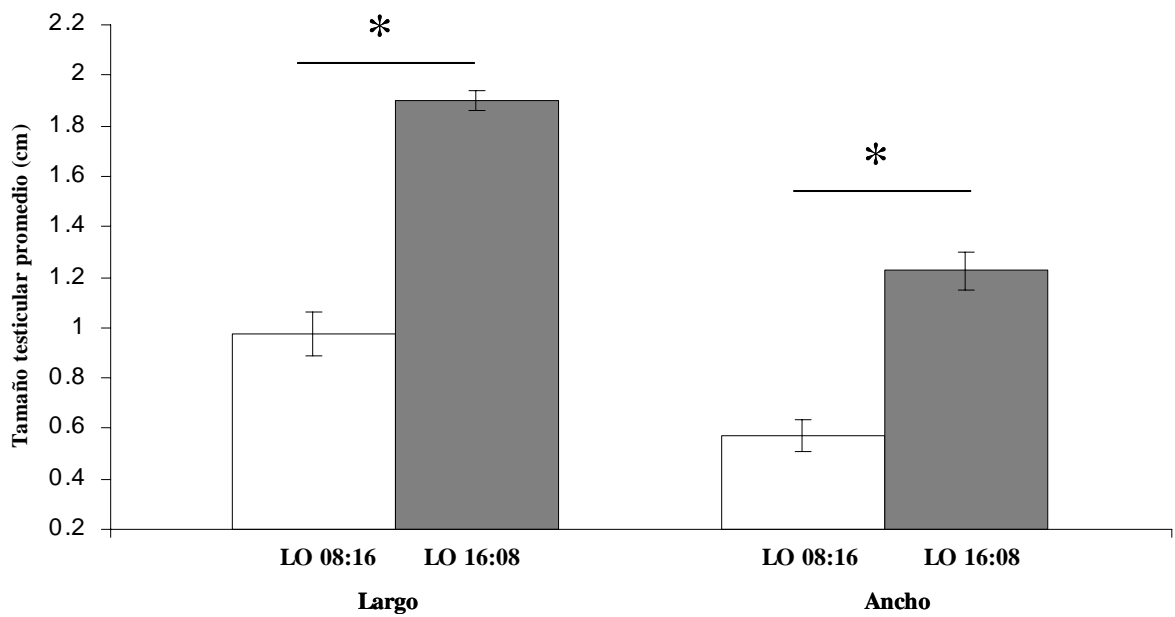
9.2.1 TAMAÑO TESTICULAR

9.2.1.1 HÁMSTER SIRIO

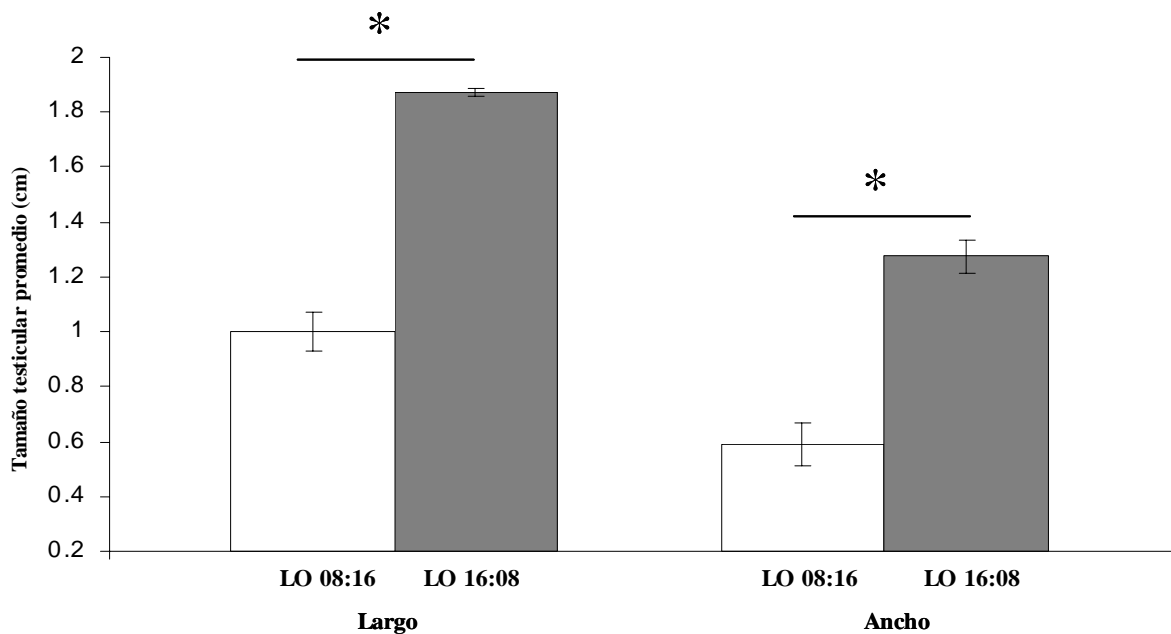
El valor promedio del tamaño testicular en los animales expuestos al fotoperíodo de días cortos con respecto a los de días largos, mostró diferencias estadísticamente significativas en el largo y ancho de ambos testículos (Tabla I). En los animales bajo el ciclo de LO 16:08, el tamaño de ambos testículos fue mayor respecto al de los animales que permanecieron en el ciclo de LO 08:16 (Gráficas 1 y 2).

Tabla I. Valores promedio del tamaño (largo y ancho) \pm EE de ambos testículos en el hámster sirio, al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16 y LO 16:08).

	Testículo izquierdo				Testículo derecho			
	Largo (cm)		Ancho (cm)		Largo (cm)		Ancho (cm)	
	LO 08:16	LO 16:08	LO 08:16	LO 16:08	LO 08:16	LO 16:08	LO 08:16	LO 16:08
Promedio	0.98	1.9	0.58	1.2	1	1.88	0.59	1.3
Error estándar	0.085	0.040	0.063	0.075	0.070	0.014	0.077	0.060



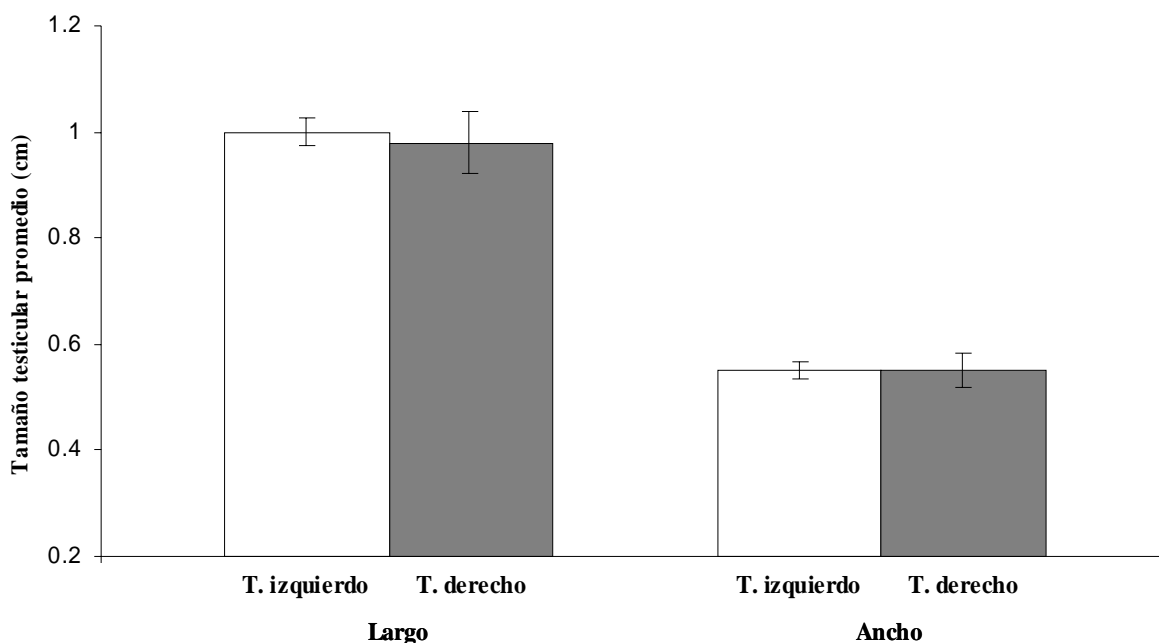
Gráfica 1. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo izquierdo en el hámster sirio al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que los animales en LO 16:08 muestran valores mayores. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)



Gráfica 2. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo derecho en el hámster sirio al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que los animales en LO 16:08 muestran valores mayores. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

9.2.1.2 RATÓN DE LOS VOLCANES

El tamaño (largo y ancho) de ambos testículos en los cinco individuos muestreados antes de dividir a los animales en dos grupos, el de fotoperíodo de días cortos y el de día largos, no mostró diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del testículo izquierdo con respecto al derecho (Gráfica 3). El testículo izquierdo midió en promedio 1 cm (± 0.03 cm) de largo y 0.55 cm (± 0.015 cm) de ancho, mientras que el testículo derecho midió 0.98 cm (± 0.06 cm) de largo y 0.55 cm (± 0.03 cm) de ancho.

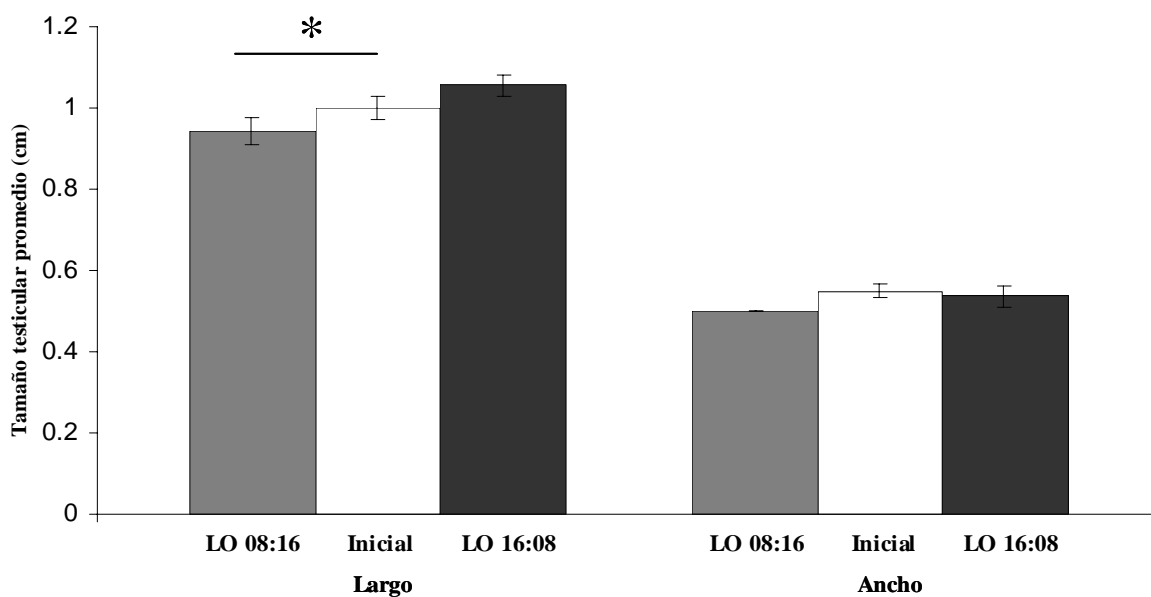


Gráfica 3. Tamaño testicular promedio (\pm EE) en la población inicial del ratón de los volcanes. La barra blanca representa el tamaño del testículo izquierdo y la barra gris el del testículo derecho.

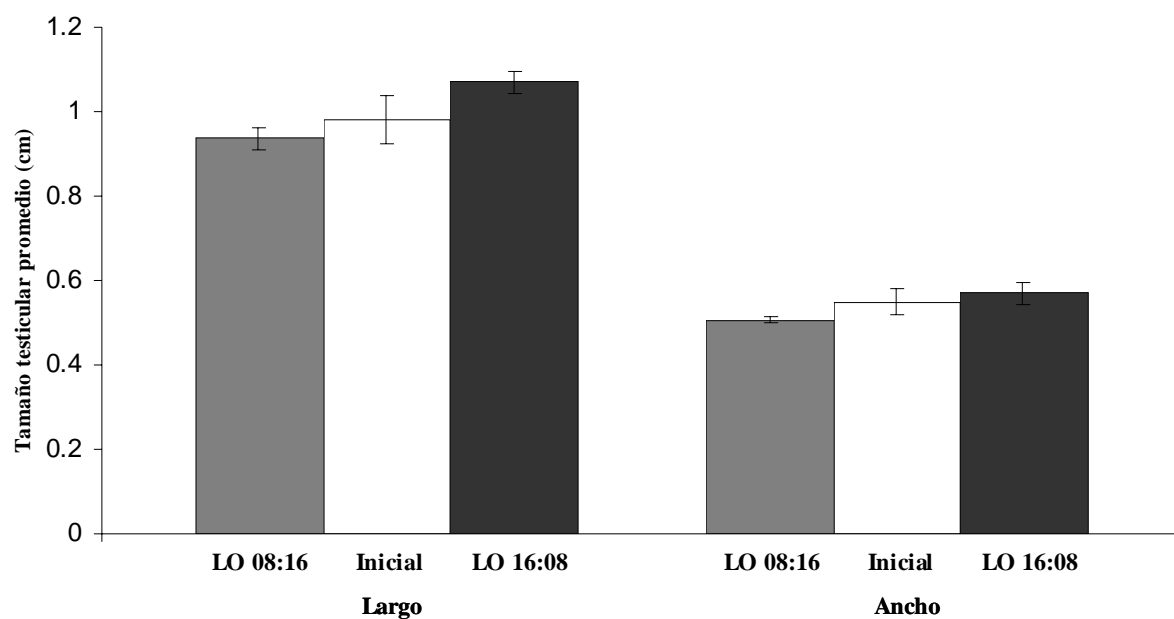
Al comparar las medidas iniciales (obtenidas en cinco individuos) y finales (obtenidas en todos los individuos tras concluir los tres meses de exposición fotoperiódica) de ambos testículos, se encontraron diferencias en el largo y ancho (Tabla II); sin embargo, sólo fueron estadísticamente significativas en el ancho inicial del testículo izquierdo con respecto al ancho final de los animales que se encontraron expuestos al fotoperíodo de días cortos, mostrando una disminución en el tamaño (Gráficas 4 y 5).

Tabla II. Valores promedio del tamaño (largo y ancho) \pm EE de ambos testículos en los individuos del ratón de los volcanes muestreados al inicio del experimento, así como en los animales que finalizaron en sus respectivos fotoperíodos (LO 08:16 y LO 16:08).

	Testículo izquierdo						Testículo derecho					
	Largo (cm)			Ancho (cm)			Largo (cm)			Ancho (cm)		
	LO 08:16	Inicial	LO16:08	LO 08:16	Inicial	LO16:08	LO 08:16	Inicial	LO16:08	LO 08:16	Inicial	LO16:08
Promedio	0.94	1	1.06	0.5	0.55	0.54	0.94	0.98	1.07	0.51	0.55	0.57
Error estándar	0.033	0.027	0.026	0	0.016	0.026	0.026	0.06	0.025	0.006	0.032	0.025

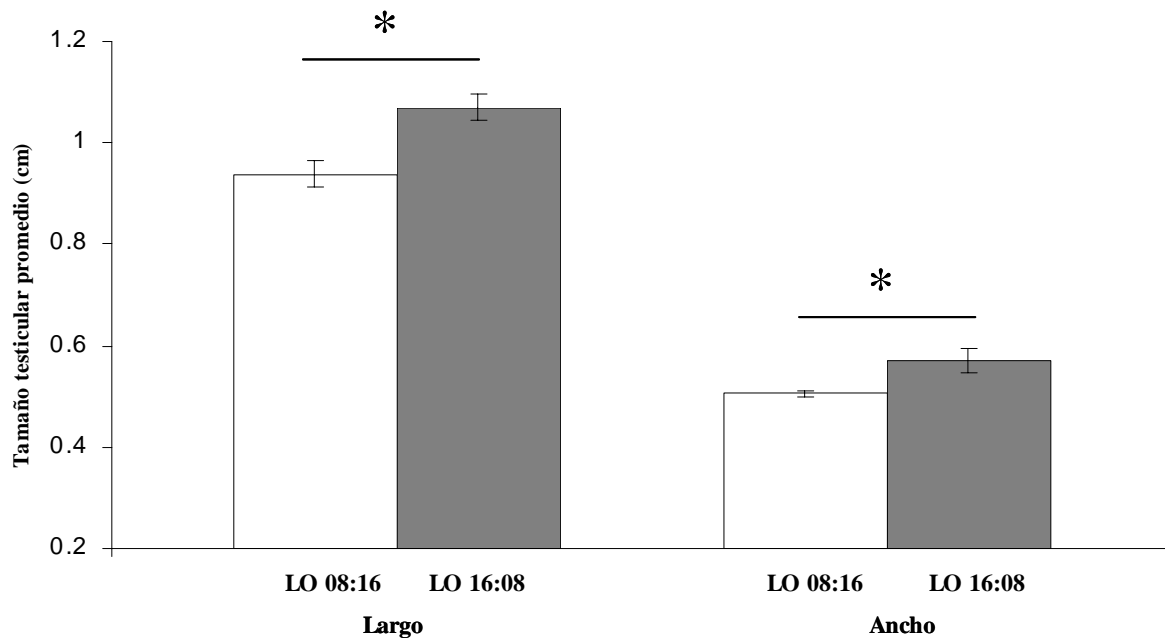


Gráfica 4. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo izquierdo en el ratón de los volcanes al inicio (barra blanca) y al final de la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra gris y LO 16:08, barra negra). Nótese que los animales muestran un aumento en el tamaño del largo en respuesta al fotoperíodo de LO 16:08, mientras que disminuyen el tamaño del largo y ancho al estar en el ciclo LO 08:16. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

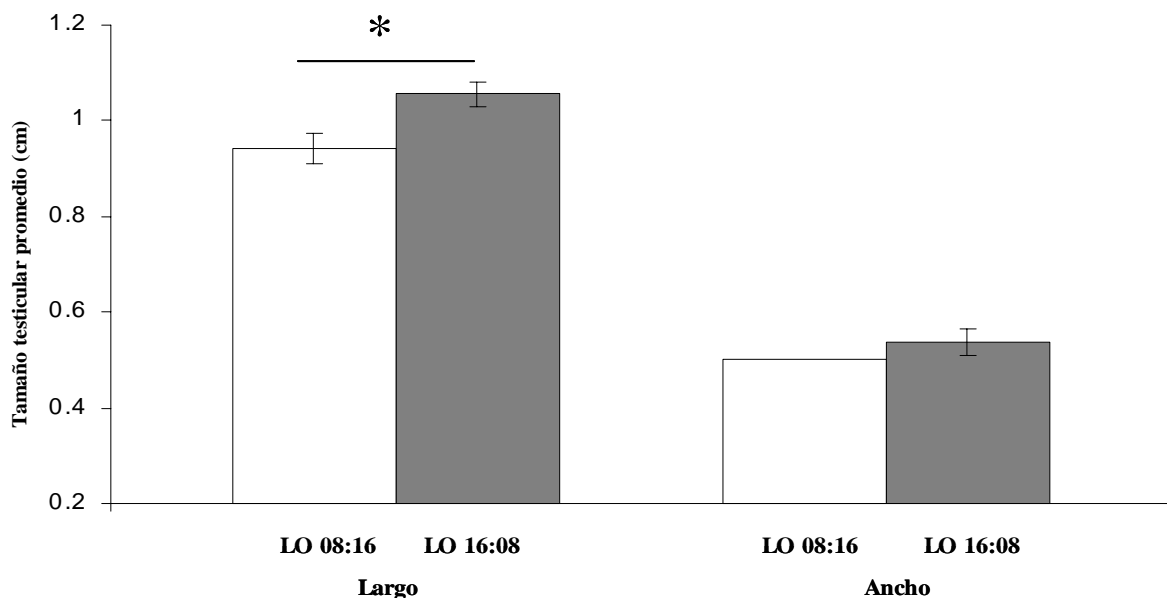


Gráfica 5. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo derecho en el ratón de los volcanes al inicio (barra blanca) y al final de la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra gris y LO 16:08, barra negra). Nótese que los animales muestran un incremento en el tamaño del largo y ancho en respuesta al ciclo LO 16:08, y disminuyen en el ciclo LO 08:16.

En cuanto al fotoperíodo de días cortos y días largos, la talla testicular fue mayor en los animales del ciclo LO 16:08. Los valores mostraron diferencias significativas en el largo y el ancho del testículo derecho y solamente en el largo del testículo izquierdo (Gráficas 6 y 7).



Gráfica 6. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo izquierdo en el ratón de los volcanes al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que los animales en el ciclo LO 16:08 muestran valores mayores en el largo y ancho con respecto a los animales en el fotoperíodo de días cortos. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)



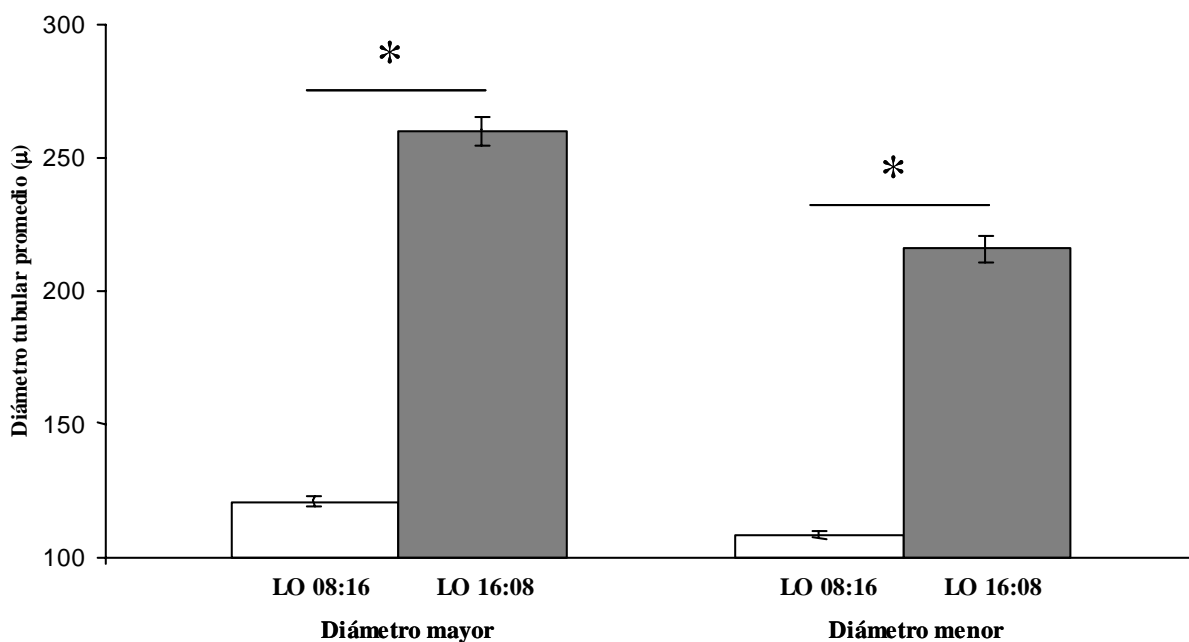
Gráfica 7. Tamaño promedio (largo y ancho) \pm EE del testículo derecho en el ratón de los volcanes al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que los animales en el ciclo LO 16:08 muestran valores mayores en el largo y ancho que los animales en el fotoperíodo de días cortos. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

9.2.2 HISTOLOGÍA TESTICULAR

9.2.2.1 HÁMSTER SIRIO

Los animales que estuvieron en ambos fotoperíodos mostraron diferencias evidentes en la estructura histológica, principalmente en el diámetro de los túbulos y en el tipo de células germinales presentes en el epitelio seminífero.

En los animales que permanecieron durante tres meses en el ciclo de LO 08:16, el promedio del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos fue de 120.93μ ($\pm 1.77 \mu$) y 108.37μ ($\pm 1.47 \mu$), respectivamente. Mientras que en los hámsteres del ciclo de LO 16:08, el promedio del diámetro mayor de los túbulos seminíferos fue de 260.12μ ($\pm 5.30 \mu$) y el del diámetro menor de 215.93μ ($\pm 4.90 \mu$). Estos valores mostraron diferencias estadísticamente significativas (Gráfica 8), siendo menor el diámetro de los túbulos en los animales del fotoperíodo de días cortos respecto a lo de días largos (Figuras 11 y 12).



Gráfica 8. Promedio del diámetro mayor y menor \pm EE de los túbulos seminíferos en el testículo del hámster sirio al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que el diámetro en los animales del fotoperíodo de días largos es mayor que en los del ciclo LO 08:16. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

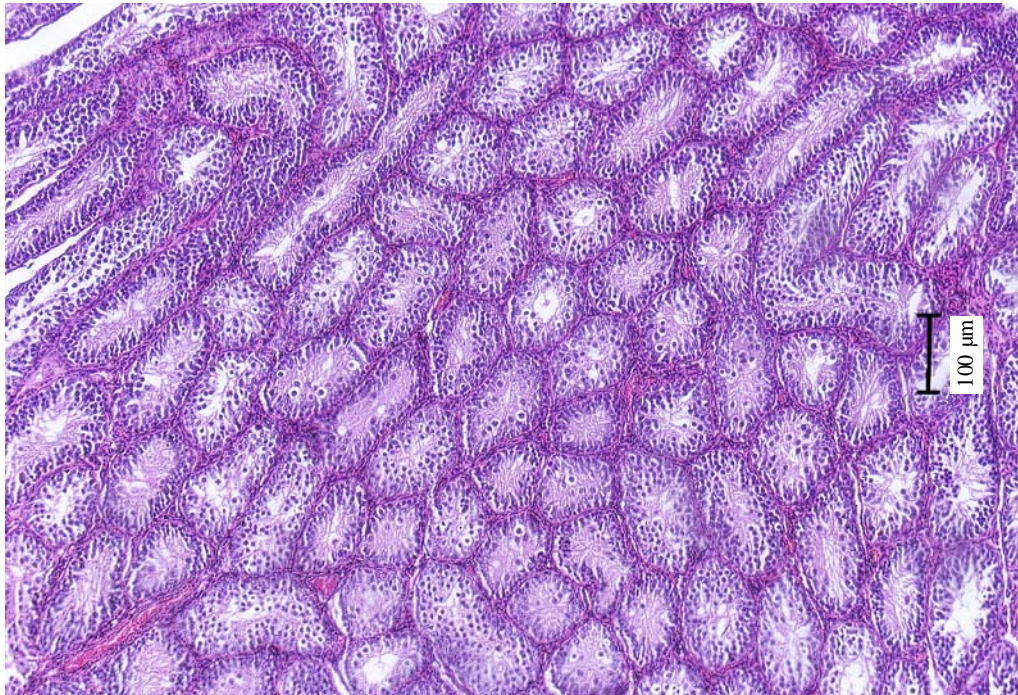


Figura 11. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de hámster sirio expuesto al fotoperíodo de días cortos. Nótese que el diámetro de los túbulos seminíferos es menor respecto a los túbulos de la Figura 12. (Tec. H-E).

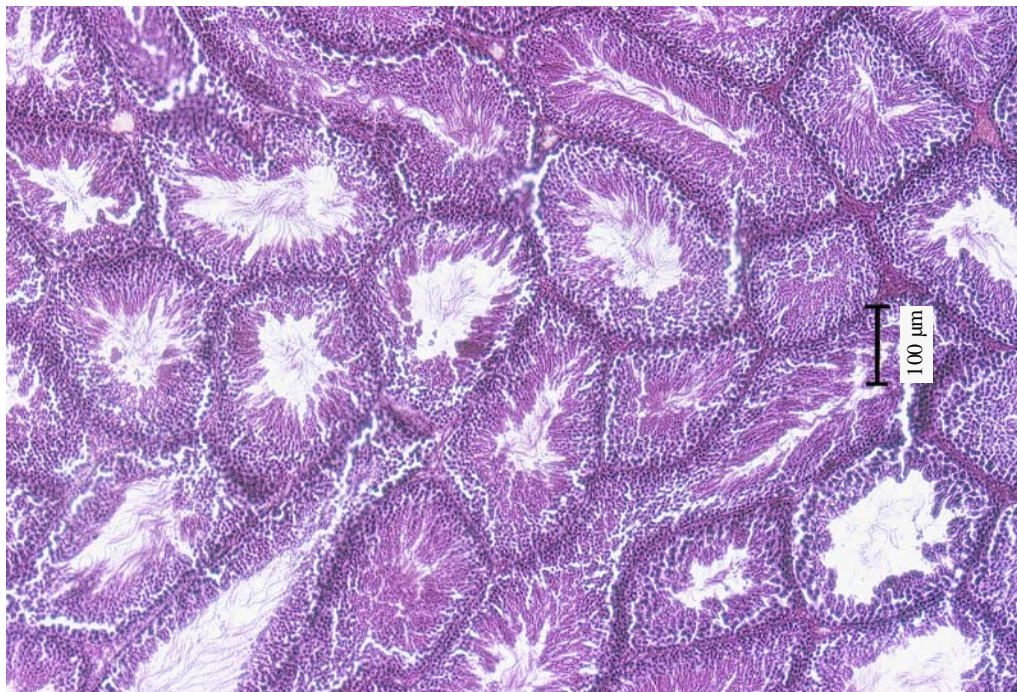


Figura 12. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de hámster sirio expuesto al fotoperíodo de días largos. Nótese que los diámetros tubulares son mayores respecto a los mostrados en la figura anterior. (Tec. H-E).

En el epitelio seminífero de los hámsteres expuestos al fotoperíodo de días cortos (Figura 13), se observaron células de Sertoli, espermatogonias, espermatocitos primarios y células en degeneración; en tanto que no se hallaron espermátidas ni espermatozoides, además de presentar una luz tubular reducida. En el espacio intersticial se observaron células de Leydig, vasos sanguíneos y tejido conjuntivo.

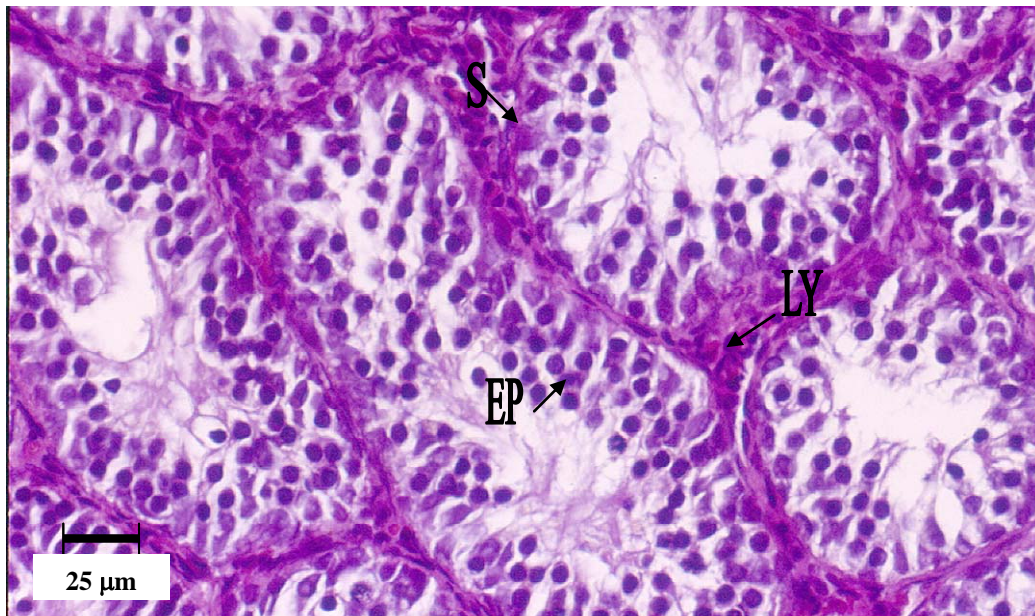


Figura 13. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de hámster sirio expuesto al fotoperíodo de días cortos. Se observan células de Sertoli (S), células de Leydig (LY) y espermatocitos primarios (EP). Nótese la ausencia de espermátidas y espermatozoides, así como de la luz tubular reducida (Tec. H-E).

En el epitelio seminífero de los hámsteres expuestos al fotoperíodo de días largos (Figura 14), se observó la estructura típica de animales gonadalmente activos llevando a cabo el proceso de espermatogénesis. En los túbulos se hallaron células de Sertoli, espermatogonias, espermatocitos primarios, espermátidas en diferentes fases de desarrollo, e incluso espermatozoides en la luz tubular. Mientras que en el espacio intersticial se observaron células de Leydig, vasos sanguíneos y tejido conjuntivo.

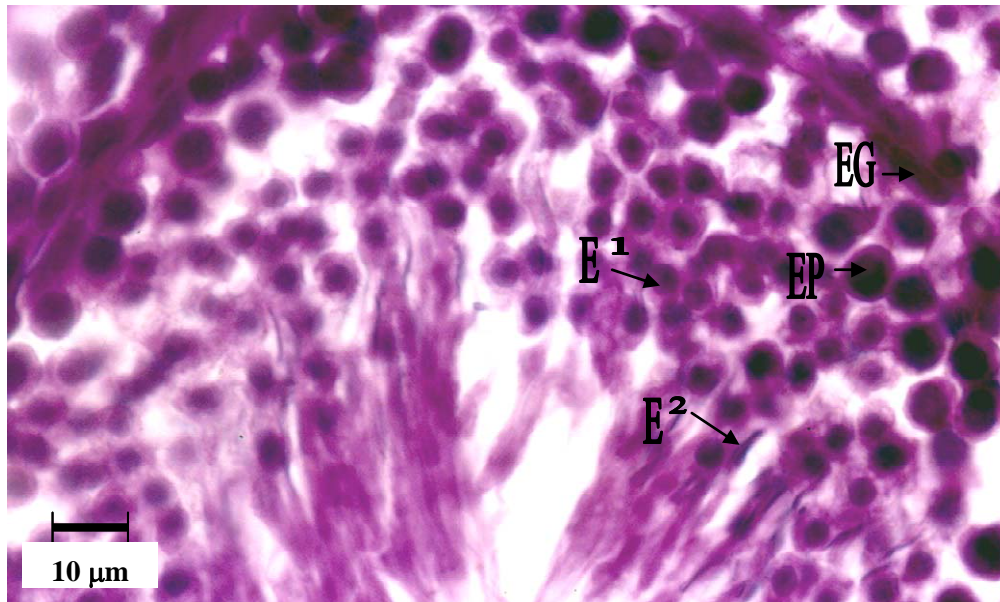
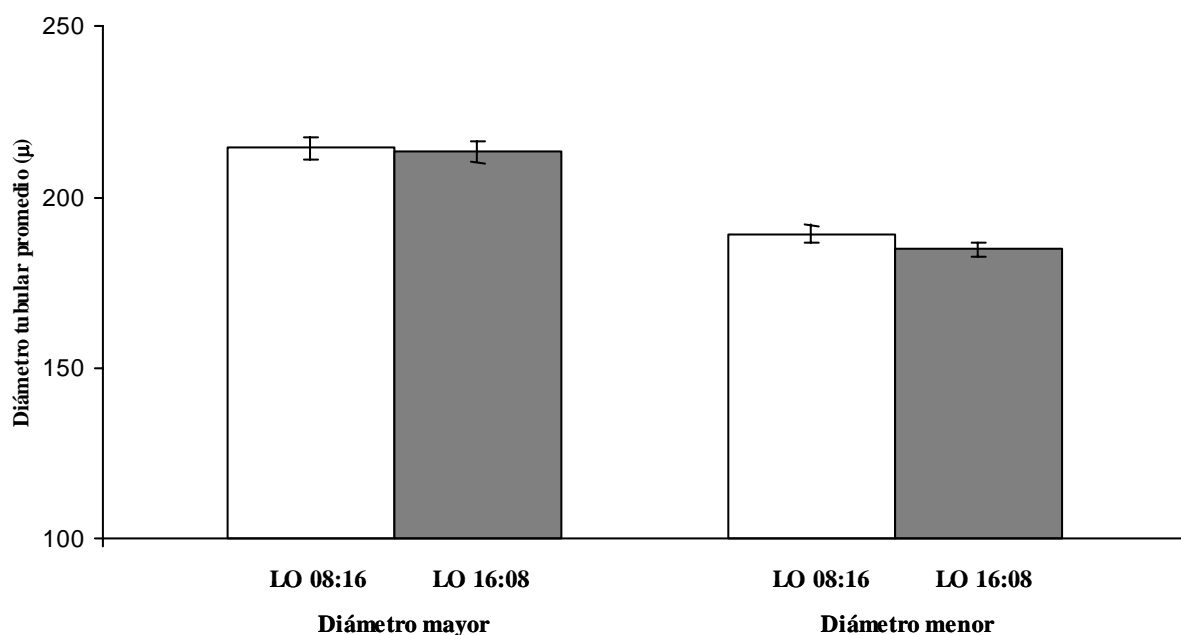


Figura 14. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de hámster sirio expuesto al fotoperíodo de días largos. Se observan espermátogonias (EG), espermátidos primarios (EP), espermátidas redondas (E¹) y alargadas (E²) (Tec. H-E).

9.2.2.2 RATÓN DE LOS VOLCANES

La estructura histológica no mostró diferencias entre los animales expuestos al fotoperíodo de días cortos con respecto a los de días largos. De tal manera que se encontraron similitudes en el diámetro de los túbulos así como en las células del epitelio seminífero.

En los animales que permanecieron durante tres meses en el ciclo de LO 08:16, el promedio del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos fue de 213.3 µ (\pm 3.26 µ) y 184.7 µ (\pm 2.04 µ), respectivamente. Mientras que en los ratones del ciclo de LO 16:08, el promedio del diámetro mayor de los túbulos seminíferos fue de 214.5 µ (\pm 3.12 µ) y el diámetro menor fue de 189.1 µ (\pm 2.43 µ). Por lo tanto, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Gráfica 9), al mostrar diámetros similares (Figuras 15 y 16).



Gráfica 9. Promedio del diámetro mayor y menor \pm EE de los túbulos seminíferos en el testículo del ratón de los volcanes, al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótase que el diámetro entre ambos grupos no muestra diferencias significativas.

En el epitelio seminífero de los ratones expuestos tanto al fotoperíodo de días cortos como al de días largos, se observaron células de Sertoli, espermatogonias, espermatocitos primarios en diferentes fases meióticas, espermatocitos secundarios, espermátidas en distintas fases de desarrollo, así como espermatozoides en la luz tubular. Mientras que en el espacio intersticial se hallaron células de Leydig, vasos sanguíneos y tejido conjuntivo.

En cada uno de los túbulos seminíferos se observaron etapas celulares específicamente definidas, llevándose a cabo la espermatogénesis de manera activa en los animales de ambos fotoperíodos (Figuras 17-20). Así, en un corte transversal de testículo se encontraron distintos estadios del ciclo del epitelio seminífero caracterizado para el ratón de los volcanes por Beltrán en 1986.

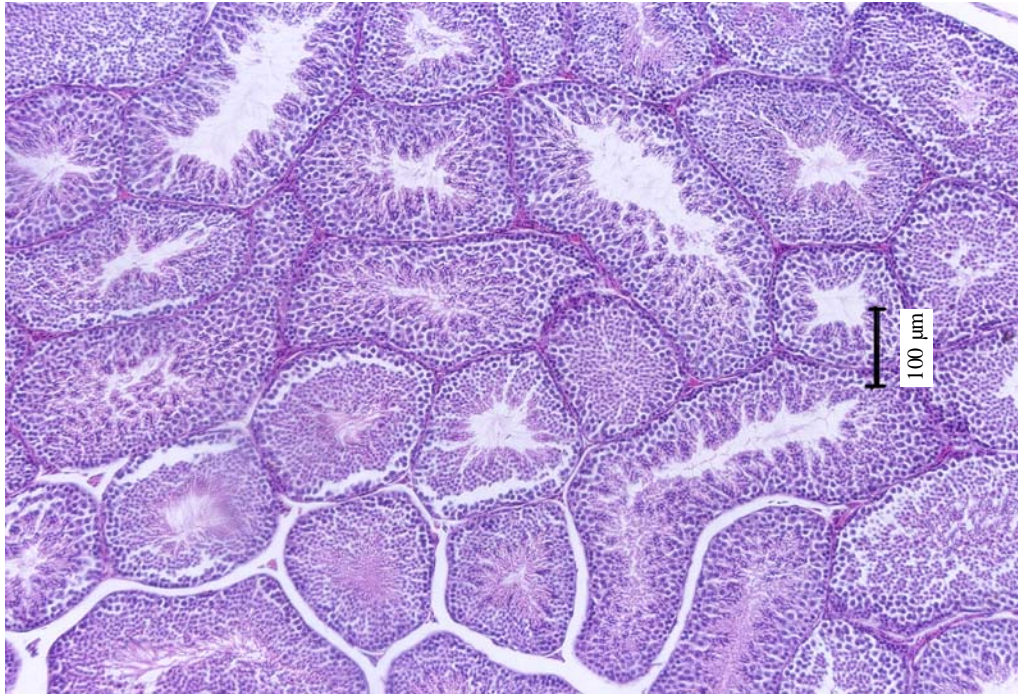


Figura 15. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días cortos. Nótese que el diámetro de los túbulos seminíferos es similar a los de la figura 16. (Tec. H-E).



Figura 16. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días largos. Nótese que el diámetro de los túbulos seminíferos es similar a los de la figura anterior. (Tec. H-E).

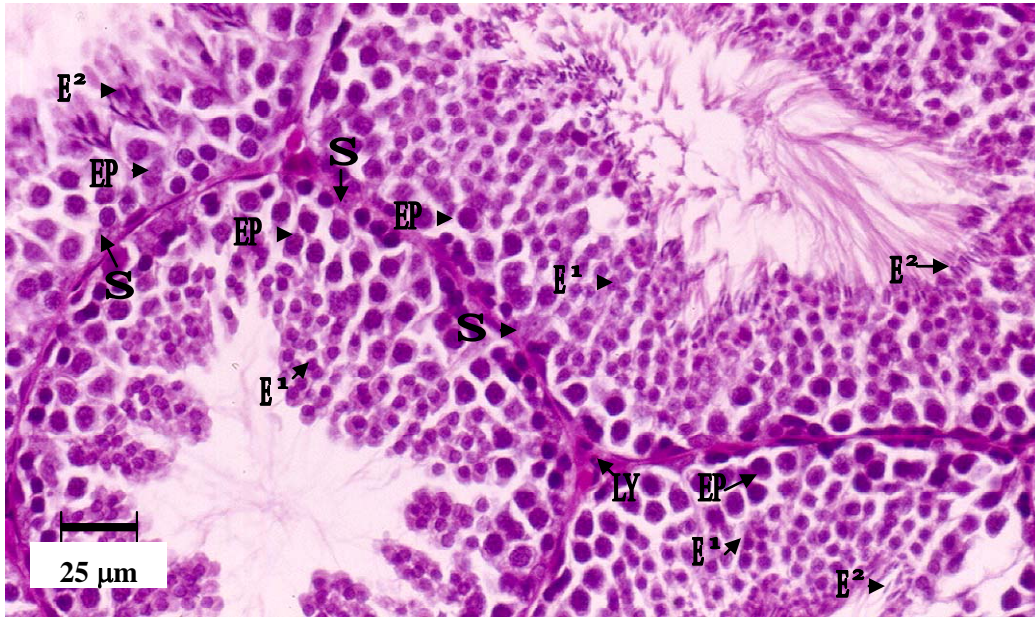


Figura 17. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días cortos. Se observan células de Sertoli (S), células de Leydig (LY), espermatoцитos primarios (EP), espermátidas redondas (E¹) y espermátidas alargadas (E²) (Tec. H-E).

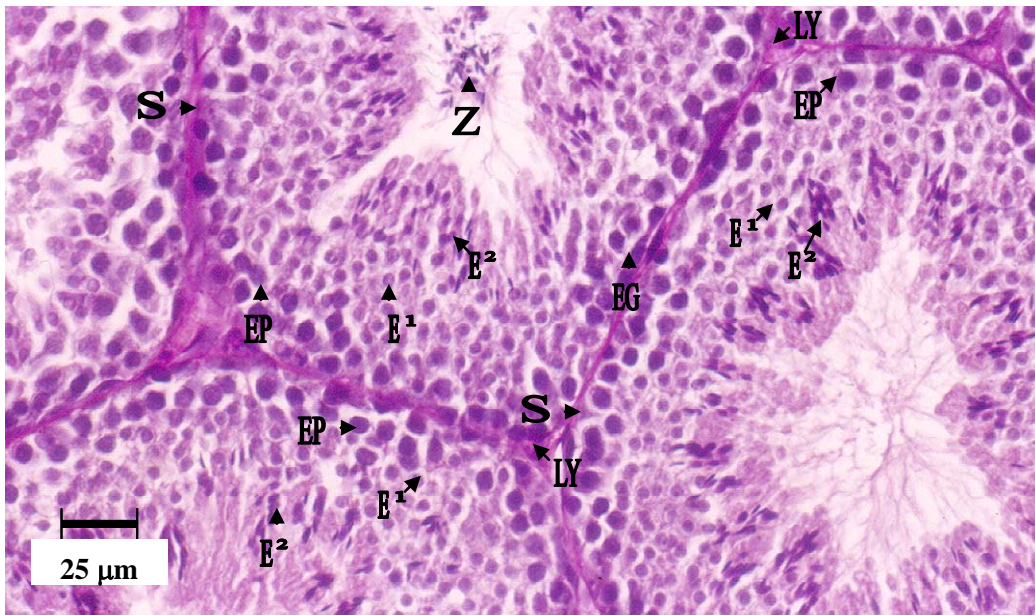


Figura 18. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días cortos. Se observan células de Sertoli (S), células de Leydig (LY), espermatoгонias (EG), espermatoцитos primarios (EP), espermátidas redondas (E¹) y alargadas (E²), así como espermatozoides (Z) (Tec. H-E).

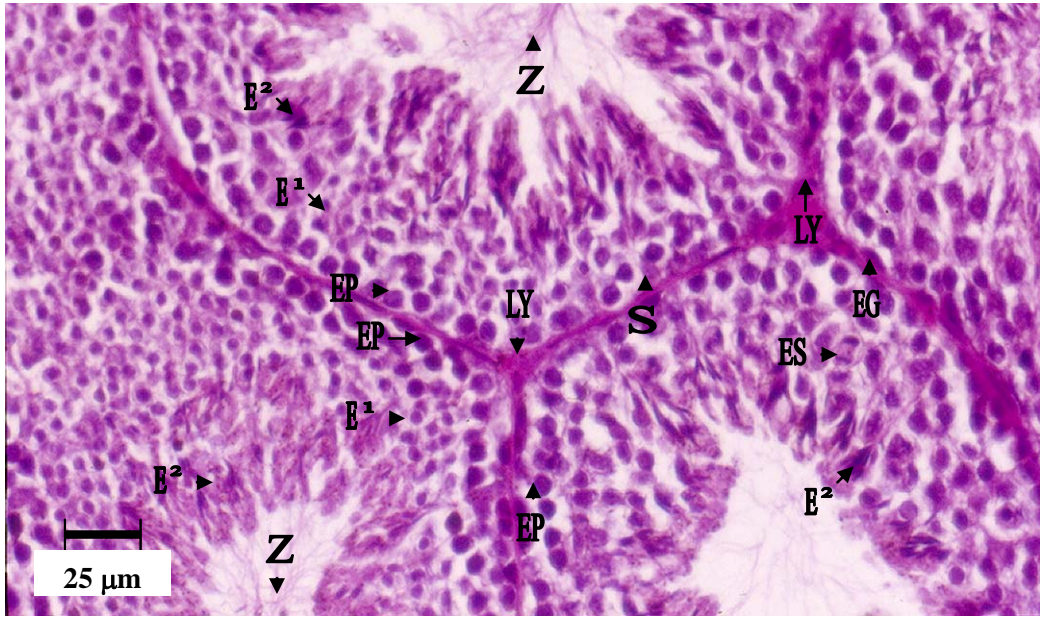


Figura 19. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días largos. Se observan células de Sertoli (S), células de Leydig (LY), espermatogonias (EG), espermatocitos primarios (EP), espermátidas redondas (E¹) y alargadas (E²), así como espermatozoides (Z) (Tec. H-E).

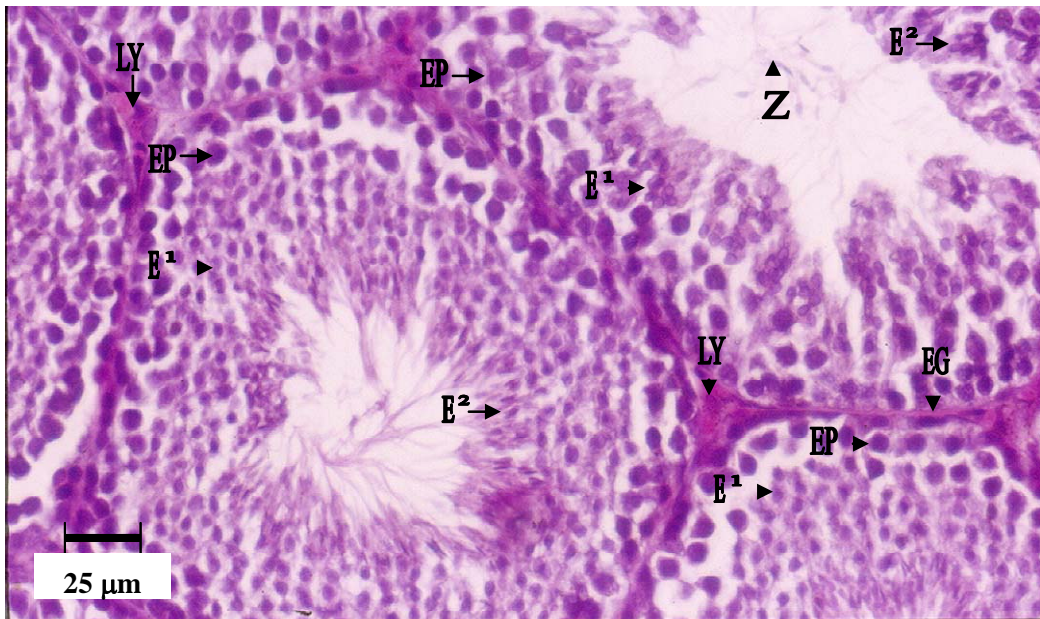
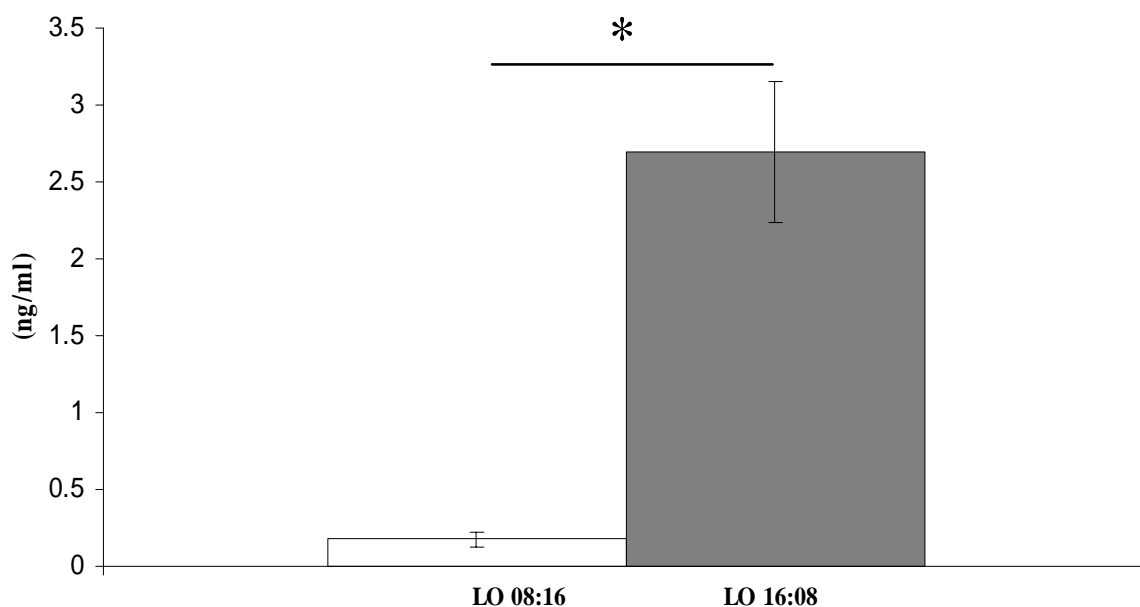


Figura 20. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de ratón de los volcanes expuesto al fotoperíodo de días largos. Se observan células de Leydig (LY), espermatocitos primarios (EP), espermátidas redondas (E¹) y alargadas (E²), así como espermatozoides (Z) (Tec. H-E).

9.2.3 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE TESTOSTERONA

9.2.3.1 HÁMSTER SIRIO

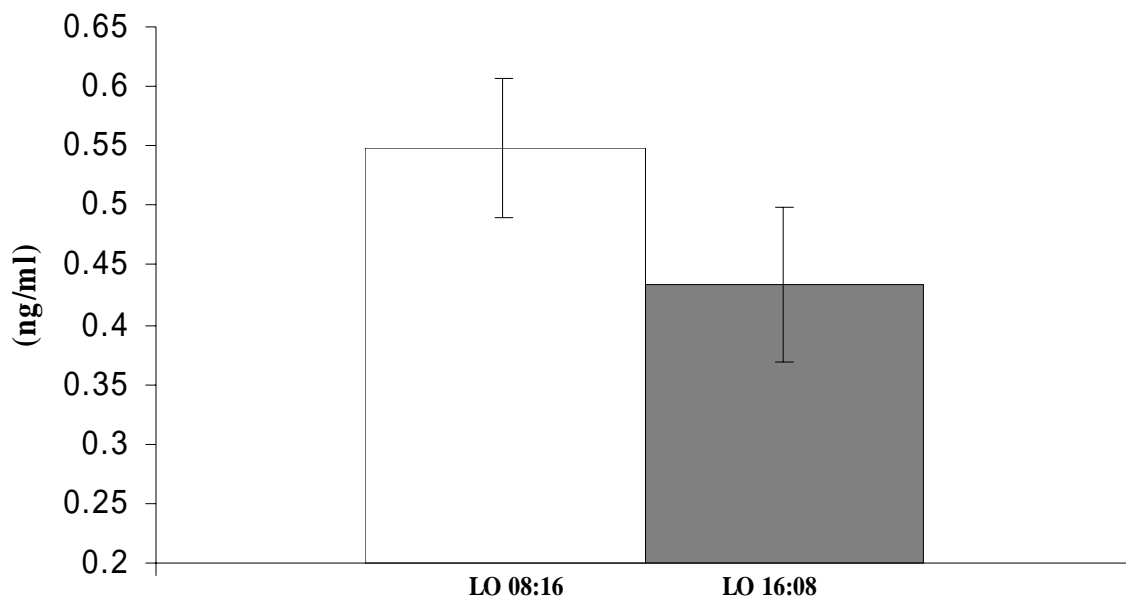
En los animales que estuvieron expuestos al fotoperíodo de días cortos, el promedio de la concentración de testosterona fue de 0.18 ng/ml (± 0.05 ng/ml), mientras que en los hámsteres del fotoperíodo de días largos fue de 2.7 ng/ml (± 0.46 ng/ml). Por lo que entre ambos grupos se encontraron diferencias significativas (Gráfica 10).



Gráfica 10. Promedio de la concentración de testosterona en el plasma sanguíneo \pm EE del hámster sirio al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16, barra blanca y LO 16:08, barra gris). Nótese que el promedio de testosterona en los animales expuestos al fotoperíodo de días largos es superior respecto a los de días cortos. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

9.2.3.2 RATÓN DE LOS VOLCANES

En este parámetro no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, ya que el valor promedio en la concentración de testosterona de los animales que permanecieron en ambos fotoperíodos (LO 08:16 y LO 16:08) fue similar, como se puede observar en la Gráfica 11. La concentración promedio fue de 0.55 ng/ml (± 0.06 ng/ml) y de 0.43 ng/ml (± 0.06 ng/ml) en los animales del fotoperíodo de días cortos y días largos, respectivamente.

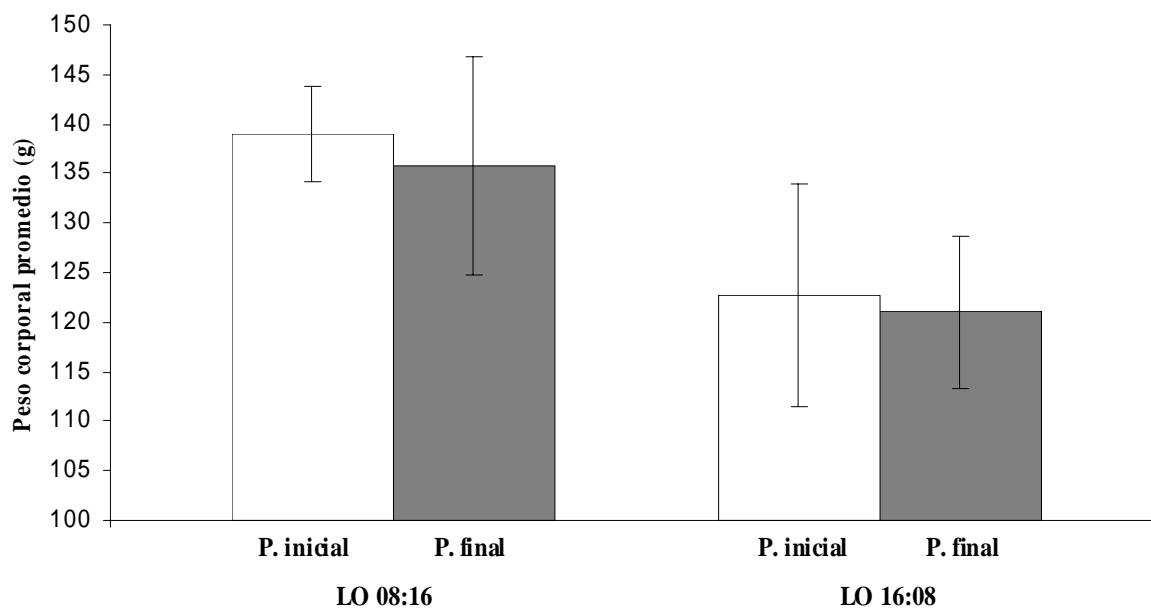


Gráfica 11. Promedio de la concentración de testosterona en plasma sanguíneo \pm EE del ratón de los volcanes al finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16 y LO 16:08).

9.2.4 PESO CORPORAL

9.2.4.1 HÁMSTER SIRIO

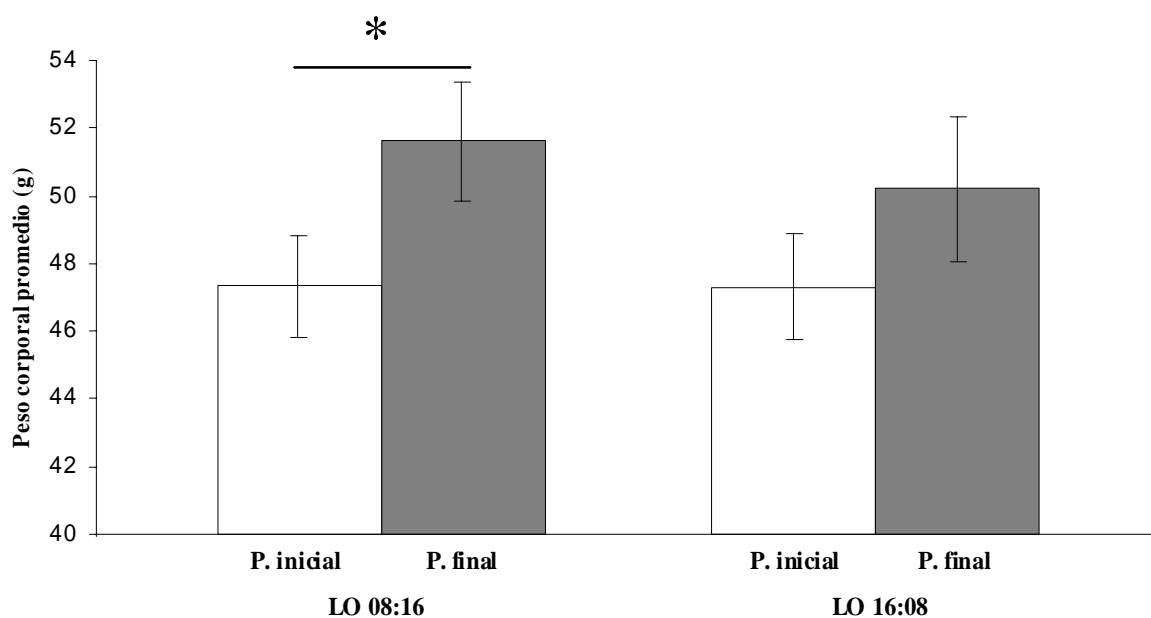
En todos los animales el peso disminuyó al finalizar la exposición fotoperiódica, en los hámsteres mantenidos en el ciclo LO 08:16 el peso inicial fue de 139 ± 5 g y el final de 135.75 ± 11 g, mientras que en los animales del ciclo LO 16:08 el peso inicial fue de 122.75 ± 11 g y el final de 121 ± 8 g; sin embargo éstas diferencias no fueron significativas en ninguno de los dos grupos (Gráfica 12).



Gráfica 12. Peso corporal promedio \pm EE en el hámster sirio al iniciar y finalizar los tratamientos fotoperiódicos (LO 08:16 y LO 16:08). Nótese que los animales de ambos fotoperíodos disminuyeron su peso.

9.2.4.2 RATÓN DE LOS VOLCANES

En todos los animales se presentó un incremento en el peso al finalizar la exposición fotoperiódica. En los ratones mantenidos en el fotoperíodo de días cortos se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el peso final (51.63 ± 1.75 g) respecto al peso inicial (47.33 ± 1.5 g). Mientras que los animales del fotoperíodo de días largos no se encontraron diferencias significativas, aunque sí presentaron un incremento en el peso, siendo el peso inicial de 47.3 ± 1.6 g y el peso final de 50.2 ± 2.12 g (Gráfica 13).



Gráfica 13. Peso corporal promedio \pm EE en el ratón de los volcanes al iniciar y finalizar la exposición fotoperiódica (LO 08:16 y LO 16:08). Nótese que los animales de ambos fotoperíodos incrementaron su peso. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

10. DISCUSIÓN

Las variaciones en la longitud del fotoperíodo se mantienen constantes año tras año, por lo que este factor ambiental puede ser utilizado por los mamíferos y otros organismos como indicador estacional, empleando para ello un sistema endógeno capaz de responder a un rango específico de la duración del día.

Por otro lado, factores como la disponibilidad de alimento y agua, temperatura, y exposición a depredadores o enfermedades, son denominados factores últimos que pueden influir en las respuestas estacionales (Goldman, 2001).

Los mamíferos, así como otras clases de vertebrados, pueden mostrar fluctuaciones estacionales en su reproducción, sincronizando el nacimiento de las crías con las condiciones ambientales más favorables para su supervivencia. Aunque el fotoperíodo no es importante por sí mismo para la adecuación reproductiva, permite a los organismos anticiparse y prepararse para cambios importantes en los factores últimos (Goldman, 2001). Es por ello que en este trabajo se evaluó la respuesta en la reproducción del macho del ratón de los volcanes, al fotoperíodo de días cortos y días largos.

10.1 ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ

Los actogramas obtenidos de los ratones expuestos al fotoperíodo de días cortos o días largos, muestran que los animales se ajustan al ciclo de luz-oscuridad correspondiente después de haber pasado por LO 12:12. Los ratones que se mantuvieron en el fotoperíodo de días cortos (LO 08:16) manifestaron un mayor número de transitorios antes de ajustarse al nuevo ciclo de LO, respecto a los animales en el fotoperíodo de días largos (LO 16:08). Esto podría indicar que los ratones presentaron mayor dificultad en ajustarse a un nuevo ciclo en el cual la luz se encendía dos horas después y se apagaba dos horas antes de lo usual en el ciclo LO 12:12.

Para la medición del fotoperíodo, se ha postulado que en los roedores nocturnos existen dos osciladores circadianos separados, pero mutuamente acoplados, que generan los ritmos conductuales: un oscilador de tarde vinculado con el inicio de la actividad y que se sincroniza con el atardecer, y un oscilador de mañana relacionado con el término de la actividad y que se sincroniza con el amanecer (Pittendrigh y Daan, 1976). La relación de fase entre estos osciladores codifica la longitud del día y cambia la duración de la banda de

actividad (Inagaki, *et al.*, 2007). De tal manera que en el ratón de los volcanes, los transitorios que se observan en los actogramas podrían ser el resultado del reajuste de fase entre estos dos osciladores acorde con el fotoperíodo de días cortos y de días largos.

Se ha determinado que los roedores nocturnos como la rata y el ratón incrementan su actividad durante los días cortos y la disminuyen en días largos; lo cual evidentemente se refleja en los resultados de este trabajo, ya que los animales en el ciclo de LO 08:16 mostraron en promedio 1.6 h más actividad que los ratones en días largos. Asimismo, los roedores nocturnos tienden a mostrar una banda de actividad dispersa en días cortos y comprimida en días largos (Inagaki, *et al.*, 2007).

La temperatura ambiental puede modificar los patrones de actividad de los animales en el campo, como se ha documentado en el caso de roedores como *Microtus agrestis*, *M. oeconomus*, *M. montanus*, *Clethrionomys gapperi*, y *C. glareolus*; los cuales presentan mayor actividad diurna en el invierno evadiendo las bajas temperaturas de la noche y más actividad nocturna durante el verano, evitando las temperaturas elevadas del día (Zucker, *et al.*, 2002). En el ratón de los volcanes, los actogramas muestran lo contrario, ya que los animales en LO 08:16 concentran su actividad durante la noche y los ratones en LO 16:08 durante el día; sin embargo, debe considerarse que durante este trabajo los animales permanecieron bajo temperatura ambiental relativamente constante (entre los 18 y 23 °C), de tal modo que es poco probable que este factor interviniera con los patrones de actividad mostrados por los animales en este trabajo, por lo cual la actividad mostrada fue influenciada por el fotoperíodo mismo.

Otros factores ambientales como la calidad y cantidad de alimento pueden afectar los patrones de actividad; sin embargo, durante el tiempo en que los ratones permanecieron en el registro crónico de actividad locomotriz, la calidad, cantidad y disponibilidad de alimento se mantuvo constante, por lo cual puede descartarse la acción de este factor como perturbador del efecto del fotoperíodo.

La estructura del ritmo de actividad locomotriz también puede verse modificada por hormonas como la testosterona. En el ratón montane campañol, la castración de los animales incrementa la actividad diurna y reduce la actividad nocturna, lo cual sugiere que la disminución de testosterona durante los días cortos induce los cambios estacionales en los patrones de actividad (Zucker, *et al.*, 2002). En el ratón de los volcanes, no se

encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de testosterona de los animales expuestos al fotoperíodo de días cortos con respecto a los que permanecieron en días largos, por lo que se descarta un posible efecto de esta hormona sobre el patrón de actividad locomotriz.

10.2 TAMAÑO TESTICULAR

Los fotoperíodos empleados en este trabajo (LO 08:16, LO 16:08) son ampliamente reportados en la literatura, al simular en el laboratorio condiciones de días cortos y días largos. Los roedores que habitan en zonas no tropicales, expuestos a un fotoperíodo con menos de 12 h de luz (fotoperíodos típicos del otoño e invierno a latitudes menores de 30°), presentan atrofia o regresión testicular (Young y Nelson, 2000).

Para el hámster sirio (*Mesocricetus auratus*), se ha documentado que la exposición diaria en el laboratorio a 12.5 h de luz o más, mantienen funcionalmente maduras las gónadas, mientras que involucionan cuando la duración del día disminuye de las 12.5 h de luz (Eskes y Zucker, 1978). Esto ha sido confirmado en los resultados de este trabajo, ya que el valor promedio del tamaño testicular (largo y ancho) en los hámsteres expuestos al ciclo de LO 08:16 fue menor respecto al tamaño testicular de los animales expuestos al ciclo LO 16:08, mostrando diferencias estadísticamente significativas, y al mismo tiempo indica que la duración de los fotoperíodos usados fueron eficaces en esta especie reconocida como fotoperiódica.

En el caso del ratón de los volcanes, no existen trabajos previos que indiquen cuántas horas de luz serían necesarias para inducir las respuestas fotoperiódicas en la reproducción; sin embargo, considerando que este roedor habita entre los 18° y 22° latitud Norte, sin duda los ciclos de luz-oscuridad utilizados en este trabajo generarían respuestas inducidas por el fotoperíodo.

El tiempo en el cual los animales permanecieron en sus respectivos fotoperíodos, fue el necesario para generar la respuesta esperada ante los días cortos y días largos (de 6 a 12 semanas), y a su vez evitar la refractariedad que se presenta en los hámsteres después de un período de 25 a 30 semanas en el fotoperíodo de días cortos y que se caracteriza por un crecimiento testicular “espontáneo” (Eskes y Zucker, 1978).

Es importante considerar que a pesar de que los ratones empleados en este trabajo fueron capturados en distintos meses (abril y mayo), la historia fotoperiódica previa del campo no influyó en la respuesta de los animales, ya que fueron aclimatados al ciclo de LO 12:12 durante al menos dos semanas, antes de exponerlos a días cortos o días largos.

Además de la historia fotoperiódica previa de los animales, existen otros factores que podrían alterar la respuesta que presentan los roedores y otros organismos ante las variaciones en la longitud del fotoperíodo, acorde con una base genética y fisiológica. Precisamente en lo que se refiere a esta última, un parámetro importante a considerar es la edad de los animales.

A pesar de que los ratones empleados durante este trabajo fueron traídos del campo y se desconocía su edad precisa, se utilizaron animales considerados adultos en relación a su peso, pues de acuerdo con Ortiz Hernández (1990) existe una asociación directamente proporcional entre la edad y el peso corporal. Se consideraron como ejemplares adultos aquellos animales que pesaron de 40 a 52 g, estimando una edad aproximada de 74 días o más. Asimismo se consideró el color del pelaje para corroborar que los ratones fueran adultos, descartando a aquellos animales de pelaje gris uniforme, pues esto es característico de los ejemplares juveniles.

Aunque quizá podría considerarse más correcto que los ratones fungieran como su propio control en el tamaño testicular al inicio y al final de la exposición fotoperiódica a días cortos o días largos, sólo cinco individuos fueron intervenidos quirúrgicamente al inicio del experimento para obtener el tamaño inicial de ambos testículos, principalmente debido a las dificultades presentadas en una etapa experimental previa que no se reportan en este trabajo, pero que se explican a continuación.

En primera instancia, se presentaron dificultades al establecer la dosis de anestesia adecuada para llevar a cabo la cirugía y determinar el tamaño testicular, ya que a diferencia de la rata o del hámster, estos datos no se especifican en la literatura para el ratón de los volcanes. Por ello, fue necesaria una serie de pruebas de ensayo y error hasta lograr determinar cuál sería el tipo de anestésico utilizado y en qué dosis se administraría. Debido a esto, se evitó intervenir quirúrgicamente a todos los animales al inicio del experimento para disminuir el riesgo de mortandad. Además, de acuerdo a lo observado en la etapa experimental previa, los animales que sobrevivían a la cirugía inicial y eran intervenidos

posteriormente para determinar el tamaño testicular final, presentaron adherencias y degeneración testicular, de tal manera que era imposible cotejar el efecto del fotoperíodo de días cortos o de días largos. Aunado a esto, el daño que se hacía en el testículo medido al inicio podía alterar los resultados finales, ya que si uno de los dos testículos es extirpado o funciona de manera anormal, el testículo sano llega a suplir la función del otro testículo. En el caso de los hámsteres, los animales tampoco fungieron como su propio control, con el fin de evitar las complicaciones ya explicadas anteriormente por llevar a cabo una segunda cirugía. A pesar de que se obtuvo el tamaño testicular inicial protuyendo el testículo sobre la piel escrotal no se consideraron estos datos para evitar errores de medición, por lo cual, al final de la exposición fotoperiódica, se decidió realizar la cirugía escrotal empleada para los ratones.

Si se considera únicamente el tamaño testicular como un parámetro indicativo de la respuesta de los animales al fotoperíodo, podría pensarse que el ratón de los volcanes muestra una respuesta similar a la del hámster sirio, ya que en los ratones expuestos al fotoperíodo de días largos los valores promedio del tamaño testicular fueron mayores respecto a los mostrados por los animales en el fotoperíodo de días cortos. Sin embargo, el análisis de otros parámetros como la estructura histológica y la concentración plasmática de testosterona, parecerían indicar que el ratón de los volcanes es un animal cuya reproducción no se encuentra regulada por el fotoperíodo.

Debido a que en el ratón de los volcanes el tamaño testicular no muestra variaciones tan notorias en respuesta fotoperiódica como en el hámster sirio, en el cual los resultados indican diferencias de hasta 0.9 cm en el largo y 0.6 cm en el ancho, parecería que estas ligeras variaciones pudieran ser consecuencia de un error de medición. Además, debe considerarse que el largo y ancho testicular no corresponden con el volumen del órgano, pues es un cuerpo tridimensional y las medidas fueron tomadas en un solo plano. Es por ello que, en caso de corroborar la tendencia de los resultados mostrados en este trabajo se propone considerar además el peso testicular, pues de acuerdo a la literatura en los hámsteres expuestos a días cortos, el peso del testículo disminuye hasta 10 veces con respecto a los animales de días largos (Darrow, *et al.*, 1980).

10.3 HISTOLOGÍA TESTICULAR

La estructura histológica del testículo del hámster sirio observada en este trabajo concuerda con la literatura, ya que en este roedor la exposición diaria en el laboratorio a 12.5 h de luz o más (días largos) mantiene la espermatogénesis activa, mientras que cesa cuando la duración del día disminuye de las 12.5 h de luz (días cortos) (Eskes y Zucker, 1978). En los hámsteres expuestos al fotoperíodo de días cortos, disminuye el diámetro tubular y el epitelio seminífero presenta sólo células de Sertoli, espermatogonias y espermatoцитos primarios (principalmente en etapa meiótica de preleptóteno), asimismo la luz tubular es reducida; mientras que en el espacio intersticial pueden visualizarse células de Leydig, vasos sanguíneos y tejido conjuntivo (Sinha Hikim, *et al.*, 1988).

En lo que respecta al ratón de los volcanes, los resultados de este trabajo sugieren que todos los animales presentaban al inicio la estructura de un testículo histológicamente maduro; ya que de acuerdo con Ortiz Hernández (1990) en este roedor existe una relación directa entre la madurez testicular, el incremento de peso corporal, el tamaño del testículo y el diámetro tubular. De tal manera que conforme al peso de los ratones se estimó una edad aproximada de 74 días o más, y los testículos ya presentan madurez a los 59 días; por lo tanto se descarta la influencia de la edad en los resultados obtenidos.

Al finalizar la exposición fotoperiódica en el ratón de los volcanes, no se encontraron diferencias aparentes en la estructura histológica testicular entre los animales del ciclo LO 08:16 y los del ciclo LO 16:08. El diámetro tubular fue similar en ambas condiciones y se observó espermatogénesis activa, a diferencia del hámster, mostrando todos los tipos celulares en el epitelio seminífero así como luz tubular con espermatozoides. Mientras que en el espacio intersticial se observaron células de Leydig, vasos sanguíneos y tejido conjuntivo.

A pesar de que no se encontraron diferencias histológicas aparentes en el ratón de los volcanes, podrían llevarse a cabo otro tipo de estudios que ayudaran a dilucidar el efecto de la longitud del fotoperíodo en la reproducción de este roedor.

El estudio estructural de las células de Leydig mediante microscopía electrónica, podría ser de utilidad ya que en el hámster sirio, los animales gonadalmente inactivos presentan una disminución en el tamaño de éstas células, así como en la cantidad relativa de retículo endoplasmático sacular (Sinha Hikim, *et al.*, 1988). Además de revisar estas

características en los ratones expuestos al fotoperíodo de días cortos, podría determinarse la proporción de retículo endoplasmático liso y rugoso en ambas condiciones fotoperiódicas, pudiéndose esperar que la cantidad de retículo liso sea mayor en las células de Leydig de los animales en el fotoperíodo de días largos, pues participa en la síntesis de lípidos y la testosterona es una hormona esteroidea que se sintetiza a partir del colesterol.

Asimismo podría estudiarse la estructura de las células de Sertoli, ya que probablemente el ratón de los volcanes muestre cambios en estas células como ocurre en los hámsteres sirios expuestos al fotoperíodo de días cortos. En el hámster el volumen y la longitud de las células de Sertoli disminuyen, además de mostrar un ligero desplazamiento de su núcleo hacia la luz tubular, reducción en el contenido de glucógeno y retículo endoplasmático liso, pocas mitocondrias y aumento en la cantidad de gotas lipídicas, las cuales podrían ser producto de las células germinales degeneradas que son fagocitadas (Sinha Hikim, *et al.*, 1988, 1989).

Por otro lado, también sería de utilidad el estudio de la densidad de los vasos sanguíneos. En vista de que el crecimiento y formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de capilares existentes es debido a un proceso denominado angiogénesis que ocurre en las gónadas de los mamíferos adultos saludables, cabría la posibilidad de que en el ratón de los volcanes incrementara la densidad de vasos sanguíneos en el testículo, así como la permeabilidad vascular, en respuesta al fotoperíodo de días largos como se reporta para el hámster sirio (revisado en Young y Nelson, 2000).

10.4 CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE TESTOSTERONA

Los resultados reportados en este trabajo para el hámster sirio, muestran concordancia con estudios previos, ya que en los animales expuestos a un fotoperíodo de días cortos, la regresión testicular se correlaciona con una reducción drástica en la concentración de gonadotropinas (FSH y LH), prolactina y testosterona en la circulación sanguínea (Chandrashekar y Bartke, 1989; Sinha Hikim, *et al.*, 1988, 1989). Asimismo, los valores en la concentración de testosterona de los hámsteres expuestos al fotoperíodo de días cortos son significativamente menores, respecto a los de días largos (Frungeri, *et al.*, 2005). Esto último se relaciona directamente con las pruebas histológicas, ya que en los animales del ciclo LO 08:16, los niveles de testosterona fueron bajos y la espermatogénesis inactiva.

En el ratón de los volcanes, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de la concentración de testosterona de los animales mantenidos en el ciclo de LO 08:16 y los del ciclo LO 16:08, lo cual se correlaciona de manera directa con la histología testicular, pues en ambos grupos la espermatogénesis se mantuvo activa.

En el ratón blanco (*Mus musculus*), los animales que se transfieren de un fotoperíodo de días largos a uno de días cortos muestran una reducción rápida en la concentración de testosterona al interior del testículo, aunque la concentración sanguínea decrece después de 6 a 8 semanas (Young y Nelson, 2000). Por lo tanto, suponiendo que el ratón de los volcanes presente una respuesta similar ante la exposición a días cortos, el tiempo que se mantuvieron a los animales en el ciclo de LO 08:16 (~13 semanas) sería suficiente para generar algún tipo de respuesta ante el fotoperíodo de días cortos.

Es probable que la cuantificación de LH y FSH sean de gran utilidad para dilucidar el efecto del fotoperíodo sobre la concentración plasmática de andrógenos, ya que estas hormonas gonadotrópicas, en particular la LH, controlan la producción de testosterona por las células de Leydig (Sinha Hikim, *et al.*, 1988, 1989). Asimismo, la concentración de LH se correlaciona con la regresión testicular en el ratón *Peromyscus maniculatus*, mientras que el fotoperíodo de días cortos disminuye la concentración de FSH en suero, que precede a la regresión gonadal en el hámster siberiano (*Phodopus sungorus*) (Young y Nelson, 2000).

Cabría explorar también el número de receptores de LH, FSH y Prolactina en el testículo del ratón de los volcanes, ya que en roedores como el hámster sirio se ha encontrado una reducción de estos receptores al exponer a los animales a un fotoperíodo de días cortos.

10.5 PESO CORPORAL

Muchos mamíferos pequeños presentan ciclos anuales en su reproducción que son acompañados por cambios morfológicos, fisiológicos y de comportamiento. Estos incluyen variaciones estacionales en la masa corporal, adiposidad, pelaje, termogénesis, inmunidad y actividad locomotriz (Król, *et al.*, 2005). Las variaciones estacionales en el tejido adiposo parecen haber sido producto de la selección natural, favoreciendo a los animales que inician

estos cambios en asociación con la reproducción, anticipándose a la estación entrante (Bartness, *et al.*, 2002). Es por ello que, en este trabajo se evaluó el peso corporal como un parámetro importante relacionado con las respuestas inducidas por el fotoperíodo en la reproducción del ratón de los volcanes.

Los cambios estacionales en el peso corporal y el contenido de tejido graso, se manifiestan de manera distinta que las respuestas inducidas por el fotoperíodo en la reproducción. En los hámsteres, campañoles, leming de collar y ratones, un fotoperíodo de días cortos induce regresión gonadal; sin embargo, en el leming de collar, el campañol y el hámster sirio, el peso y el tejido graso se incrementan; mientras que en el hámster siberiano y europeo, el ratón de campo y el ratón *Peromyscus maniculatus* el peso y tejido graso disminuyen (Bartness, *et al.*, 2002).

Los hámsteres empleados en este trabajo no aumentaron de peso ante los días cortos, sino que incluso los animales de ambos grupos disminuyeron su peso corporal (LO 08:16 : 139 ± 5 g – 135.75 ± 11 g; LO 16:08 : 122.75 ± 11 g – 121 ± 8 g). Aunque estas diferencias no fueron significativas, es posible que otras características del fotoperíodo y la intensidad de la luz usada en este trabajo pudieran estar involucradas con esta respuesta; sin embargo, la respuesta fotoperiódica esperada en el tamaño testicular no se vio afectada. De tal manera que los animales de menor peso que podría pensarse fueran juveniles, y que se mantuvieron en el ciclo LO 16:08, presentaron un tamaño testicular mayor y espermatogénesis activa, en contraste con los animales de mayor peso corporal (mantenidos en el ciclo LO 08:16).

Por otro lado, en el ratón de los volcanes todos los animales incrementaron su peso corporal al finalizar la exposición fotoperiódica. Este aumento pudo darse en respuesta a las condiciones de cautiverio o predisposición genética, pues trabajos previos en este roedor indican que tiende a la obesidad en el laboratorio, quizá como consecuencia al consumo de alimento *ad libitum* y al estado de sedentarismo que conduce a un menor gasto energético (Carmona, 2006).

El aumento de peso que se observa en el hámster sirio y el leming de collar en respuesta al fotoperíodo de días cortos, no se encuentra correlacionado con un incremento en la ingesta de alimento, lo cual sugiere que los animales reducen su gasto energético. Ha sido demostrado que el hámster sirio en días cortos reduce su actividad locomotriz en rueda

aproximadamente 66% en los machos y 48% en las hembras, respecto a los animales en días largos (Król, *et al.*, 2005). Es por ello que sería de utilidad estudiar una posible correlación entre la actividad locomotriz del ratón de los volcanes y su incremento de peso.

El estudio de poblaciones silvestres de campañoles, ha demostrado que el promedio de peso invernal varía considerablemente entre los animales de acuerdo a la estación del año en la misma localidad. El peso depende de factores extrínsecos asociados dentro del ambiente inmediato (e.g. temperatura ambiental, calidad y disponibilidad de alimento, tasa de depredación y parasitismo), así como de factores intrínsecos como la edad, el estado fisiológico y/o genético (Król, *et al.*, 2005).

10.6 CONSIDERACIONES GENERALES

Desde que la estacionalidad reproductiva ha sido ampliamente estudiada en mamíferos, se ha sugerido que alguna especie (como el ratón o la rata de laboratorio) no es fotoperiódica si la duración del día no afecta su estatus reproductivo. Sin embargo, se trata de una conclusión prematura, ya que otras respuestas fisiológicas o conductuales pueden estar reguladas por las variaciones en la longitud del fotoperíodo (Goldman, 2001).

Los parámetros evaluados en este trabajo, sugieren que el ratón de los volcanes no regula su reproducción por modificaciones estacionales en el fotoperíodo. Sin embargo, es posible que el animal cambie de manera estacional el color de su pelaje, reportándose variaciones del color gris negruzco a café castaño opaco en los animales adultos.

Probablemente, el ratón de los volcanes regule su reproducción de acuerdo con la disponibilidad de alimento. En un estudio realizado por Álvarez y Mayo-Aceves, acerca del contenido estomacal de este roedor en diferentes regiones del Valle de México, se estableció que su dieta está constituida por plantas herbáceas como *Trifolium*, *Bidens triplinervia* (Compositae) y *Rumex acetocella* (Poligonaceae); frutos como fresa (*Fragaria*) y zarzamora (*Rubus*), en la temporada de lluvias y capulincillo (*Pernettya*), a finales del año; granos de polen de *Trifolium*, *Ambrosia*, *Salvia*, *Zephyranthes*, *Rhus*, *Ribes*, *Salix*, *Alnus*, *Pinus* y *Quercus*. Además de artrópodos del orden Coleóptera (Scarabaeidae, Tenebrionidae, Carabidae y Curculionidae); así como de hormigas (Formicidae) y de larvas de lepidópteros (Noctuidae). Estos investigadores concluyeron que las diferencias observadas en el contenido estomacal de los ratones de cada región, dependían de las

variaciones ecológicas y estacionales, de tal forma que la dieta del ratón de los volcanes en la temporada de secas (noviembre-abril) está constituida particularmente de tejido vegetal; mientras que en la temporada de lluvias (mayo-octubre), consiste principalmente de insectos (Carmona, 2006). Debido a que el pico estacional en la reproducción del ratón de los volcanes es de abril a septiembre, parece ser que el animal se reproduce en temporada de lluvias cuando su dieta se constituye principalmente de insectos, lo cual llevaría a pensar que es en estos meses cuando el animal tienen a su alcance un mayor contenido proteínico en su dieta.

11. CONCLUSIONES

- i.- Pese a los cambios observados en el tamaño testicular, los estudios histológicos del testículo y de la concentración plasmática de testosterona, indican que la reproducción en el macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni alstoni*, no presenta todas las características de una respuesta diferencial al fotoperíodo de días largos (LO 16:08) y de días cortos (LO 08:16), como sucede en el hámster dorado *Mesocricetus auratus*; sin embargo, su estacionalidad reproductiva podría verse afectada por factores como la disponibilidad de alimento en su hábitat.
- ii.- La actividad locomotriz en el ratón de los volcanes muestra actividad principalmente nocturna aunque la cantidad de actividad diurna aumenta en fotoperíodo de noches cortas.
- iii.- En el ratón de los volcanes, los individuos tardan más días en mantener una relación de fase estable con la escotofase durante el fotoperíodo de días cortos, respecto a los animales en días largos.
- iv.- En condiciones de cautiverio, el ratón de los volcanes incrementa su peso corporal independientemente de la longitud del fotoperíodo, probablemente por el sedentarismo y la disposición de alimento *ad libitum*.

12. ANEXO I:

TÉCNICA HISTOLÓGICA (Modificado de Estrada, *et al.*, 1982)

Una vez disecado el testículo, éste se corto en dos secciones transversales y se fijó de manera inmediata con formalina neutra al 10% amortiguada con sales de fosfato. El tejido se mantuvo fijado en la solución de formol aproximadamente 31 días, posteriormente se lavó con agua corriente por goteo durante 3 h y se enjuagó con agua destilada (2 cambios de 10 min. cada uno). Inmediatamente se deshidrató el tejido mediante cambios sucesivos en alcoholes etílicos de concentración ascendente, 30%, 50%, 70%, 80%, 96% y alcohol absoluto, durante 1 h en cada alcohol y dos cambios de ½ h en el caso del alcohol absoluto. Posteriormente, se colocaron las muestras de tejido en una solución de xilol-alcohol absoluto (1:1) durante 40 min. Se transfirió el tejido a xilol durante 30 min. y, posteriormente, a una solución de xilol-parafina (1:1) en la cual se dejaron las muestras cerca de 1 h. Finalmente, se hicieron dos cambios en parafina de 1 h cada uno (para las muestras de tejido del ratón de los volcanes) y dos cambios de 24 h cada uno (para las muestras de tejido del hámster sirio), para incluir el tejido en bloques de parafina.

Una vez incluido el tejido, se montó el bloque de parafina en una base de madera para cortarlo. Esto se llevó a cabo mediante el uso de un micrótopo de rotación semiautomático de parafina, haciendo cortes de 7 µ de grosor, los cuales se colocaron en un baño de flotación a 27°C. Estos cortes se montaron y etiquetaron en la superficie de un portaobjetos de vidrio, dejándose secar a temperatura ambiente.

Los cortes de tejido se tiñeron mediante la técnica de Hematoxilina-Eosina, para lo cual fue necesario desparafinarlos mediante tres cambios continuos de xilol, de 5 a 10 min. cada uno. Inmediatamente se hidrató el tejido a través de cambios sucesivos en alcoholes etílicos de concentración descendente: absoluto, 96%, 80%, 70% y 50%, por 5 min. en cada uno. Se colocaron los portaobjetos con las muestras en agua destilada y se tiñeron con Hematoxilina de Harris durante 3 min.; se enjuagaron con agua de la llave para virar el color y luego con agua destilada para detener el viraje. Posteriormente, se deshidrató el tejido con alcoholes al 50% y 70% por 3 min. en cada uno para teñir con Eosina alcohólica durante 3 min. Se continuó el proceso de deshidratación con alcohol al 96% (dos cambios) y alcohol absoluto, durante 5 min. para cada alcohol. Finalmente se aclararon las muestras con xilol durante 5 min. y se cubrieron con resina sintética y un cubreobjetos.

13. BIBLIOGRAFÍA


- 📖 Aguilar Roblero, R., Mercado, C., Guadarrama, P. y Chávez, J. L. 2004. *Aspectos celulares y moleculares del Núcleo Supraquiasmático*. En: Hernández, M. E. y Ortega, A. (Eds.). *Fisiología celular y molecular. Principios y conceptos*. Universidad Veracruzana, México. pp. 181-192.
- 📖 Aleandri, V., Spina, V. and Morini, A. 1996. The pineal gland and reproduction. *Human Reproduction Update*. 2 (3): 225-235.
- 📖 Álvarez, T. y Mayo-Aceves, E. 1993. Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni alstoni* (Merriam, 1898). *Acta Zool. Mex.* 59: 1-51.
- 📖 Arendt, J. 1998. Melatonin and the pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. *Reviews of Reproduction*. 3: 13-22.
- 📖 Aschoff, J. 1981. *Biological Rhythms. Handbook of Behavioral Neurobiology*. Vol 4. Plenum Press. New York. 553 pp.
- 📖 Bartness, T. J., Demas, G. E. and Song, C. K. 2002. Minireview. Seasonal Changes in Adiposity: the Roles of the Photoperiod, Melatonin and Other Hormones, and Sympathetic Nervous System. *Exp Biol Med*. 227 (6): 363-376.
- 📖 Beltrán, D. M. 1986. *Estudio Histológico del Testículo, Epidídimo y Conducto Deferente en Neotomodon alstoni alstoni*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 60 p.
- 📖 Boden, M.J., Kennaway, D.J. 2006. Circadian rhythms and reproduction. *Society for Reproduction and Fertility*. 132: 370-392.
- 📖 Bronson, F.H. 1985. Mammalian Reproduction: An Ecological Perspective. *Biology of Reproduction*. 32: 1-26.
- 📖 Caldelas, Ivette. 2006. *La relación madre-cría en el conejo europeo ¿es sólo una cuestión de tiempo?*. Gaceta Biomédicas. Octubre. Órgano Informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México.
- 📖 Carmona, C. A. 2006. *Obesidad, esteatosis hepática y parámetros sanguíneos en el ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni) mantenido en cautiverio*. Tesis

- de Maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 95 p.
- 📖 Chandrashekar, V. and Bartke, A. 1989. The Influence of Short Photoperiod on Testicular and Circulating Levels of Testosterone Precursors in the Adult Golden Hamster. *Biology of Reproduction*. 40: 300-306.
- 📖 Chávez, C.B. 2005. Ratón de los volcanes. En: Cevallos, G. y Oliva, G. (coords.). Los mamíferos silvestres de México. FCE, CONABIO. México, D.F. 1986 p.
- 📖 Darrow, J. M., Davis, F.C., Elliott, J. A., Stetson, M. H., Turek, F. W. and Menaker, M. 1980. Influence of Photoperiod on Reproductive Development in the Golden Hamster. *Biology of Reproduction*. 22: 443-450.
- 📖 Davis W.B. & Follansbee, L.A. 1945. The Mexican volcano mouse, *Neotomodon*. *J. Mammal*. 26: 401-441.
- 📖 Demetriou, J. A. *Testosterone*. (1987) En: Pesce, A. J., Kaplan, L. A. (Eds). Methods in clinical chemistry. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 268 p.
- 📖 Eskes, G. A. and Zucker, I. 1978. Photoperiodic regulation of the hamster testis: Dependence on circadian rhythms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 75 (2): 1034-1038.
- 📖 Estrada E, Peralta L. y Rivas P. 1982. Manual de Técnicas Histológicas. AGT Editor, México. 140 p.
- 📖 Estrada Lugo, E. 1978. *Estudio sobre la reproducción del Ratón de los Volcanes (Neotomodon alstoni) silvestre y nacido en el laboratorio (F1 y F2)*. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 96 p.
- 📖 Frungieri, M. B., Mayerhufer, A., Zitta, K., Pignataro, O. P., Calandra, R. S., González-Calvar, S. I. 2005. Direct Effect of Melatonin on Syrian Hamster Testes: Melatonin Subtype 1 Receptors, Inhibition of Androgen Production, and Interaction with the Local Corticotropin-Releasing Hormone System. *Endocrinology*. 146 (3): 1541–1552.
- 📖 Granados, H., and J. Hoth. 1989. Estudios sobre la biología del ratón de los volcanes (**Neotomodon alstoni alstoni**). XVI. Comparación de la capacidad reproductora de hembras silvestres en el laboratorio, siguiendo tres sistemas de apareamiento. *Archivos de Investigación Médica (México)* 20:95-05.

- 📖 Goldman, B. D. 1999. The circadian timing system and reproduction in mammals. *Steroids*. 64: 679-685.
- 📖 Goldman, B. D. 2001. Mammalian Photoperiodic System: Formal Properties and Neuroendocrine Mechanisms of Photoperiodic Time Measurement. *Journal of Biological Rhythms.*, 16 (4): 283-301.
- 📖 Goldman, B. D., Gwinner, E., Karsch, F. J., Saunders, D., Zucker, I. and Ball, G. F. *Circannual Rhythms and Photoperiodism*. En: Dunlap, J. C., Loros, J. J. y DeCoursey P. J. (eds). 2004. *Cronobiology. Biological Timekeeping*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, U.S.A. pp. 107-142.
- 📖 Gorman, M. R., Goldman B. D. and Zucker, I. 2001. *Mammalian Photoperiodism*. En: Takahashi, J.S., Turek, F.W., Moore, R.Y. 2001. *Circadian Clocks*, Volumen 12 of *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, USA. pp. 481-508.
- 📖 Gruart, A., Delgado, J. M., Escobar, C. y Aguilar Roblero, R. (2002). *Los relojes que gobiernan la vida*. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 197 pp.
- 📖 Harmer, S.L., Satchidananda, P. and Kay, S.A. 2001. Molecular bases of circadian rhythms. *Annu. Rev: Cell. Dev. Biol.*17:215-53.
- 📖 Huereca, D. 2002. "*Neotomodon alstoni*" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed October 08, 2006 at http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Neotomodon_alstoni.html.
- 📖 Illnerová, H., Sumová, A., Trávníčková, Z., Jác, M., Jelínková, D. 2000. Hormones, Subjective Night and Season of the Year. *Physiol. Res.* 49 (Suppl. I): S1-S10.
- 📖 Inagaki, N., Honma, S., Ono, D., Tanahashi, Y. and Honma, K. 2007. Separate oscillating cell groups in mouse suprachiasmatic nucleus couple photoperiodically to the onset and end of daily activity. *PNAS*. 104 (18): 7664-7669.
- 📖 Jagota, A., O. de la Iglesia, H. and Schwartz, W.J. 2000. Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus *in vitro*. *Nature neuroscience*. 3 (4): 372-376).

- 📖 Johnston, J. D. 2005. Measuring Seasonal Time within the Circadian System: Regulation of the Suprachiasmatic Nuclei by Photoperiod. *Journal of Neuroendocrinology*. 17: 459-465.
- 📖 Król, E., Redman, P., Thomson, P. J., Williams, R., Mayer, C., Mercer, J. G. and Speakman, J. R. 2005. Effect of photoperiod on body mass, food intake and body composition in the field vole, *Microtus agrestis*. *The Journal of Experimental Biology*. 208: 571-584.
- 📖 Lincoln, G. A., Johnston, J. D., Andersson, H., Wagner, G. and Hazlerigg G. 2005. Photorefractoriness in Mammals: Dissociating a Seasonal Timer from the Circadian-Based Photoperiod Response. *Endocrinology*. 146 (9): 3782-3790.
- 📖 Luis, J., A. Carmona, J. Delgado, F. Cervantes, R. Cardenas. 2000. Parental Behavior of the Volcano Mouse, **Neotomodon alstoni** (Rodentia: Muridae), in Captivity. *Journal of Mammalogy*, 81(2): 600-605.
- 📖 Malpoux, B. Migaut M., Tricoire H. & Chemineau P. 2001. Biology of Mammalian Photoperiodism and the Critical Role of the Pineal Gland and Melatonin. *J. Biol Rhythms*. 4 (16) :336-347.
- 📖 Moreno, M. J. Y Martínez, J. A. 2002. El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor. *ANALES Sis San Navarra*. 25 (Supl. 1): 29-39.
- 📖 Morgan, P. J. and Mercer J. G. 2001. The regulation of body weight: lessons from the seasonal animal. *Proceedings of the Nutrition Society*. 60: 127-134.
- 📖 Morgan, P. J., Ross, A. W., Mercer, J. G. and Barrett, P. 2003. Photoperiodic programming of body weight through the neuroendocrine hypothalamus. *Journal of Endrocrinology*. 177: 27-34.
- 📖 Ortiz H. R.1990. *Estudio Histológico de la Madurez Gonadal del ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni) en el Laboratorio (F₁)*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 204 p.
- 📖 Pandi-Perumal, S. R., Srinivasan V., Maestroni, G. J. M, Cardinali, D. P., Poeggeler, B. and Hardeland, R. 2006. Melatonin: Nature's most versatile biological signal?. *FEBS Journal*. 273: 2813-2838.

- 📖 Setchell, B. P. 1982. Spermatogenesis and spermatozoa. En: Austin, C. R. and Short, R. V. *Reproduction in mammals: 1*. Cambridge University Press, London. pp. 63-101.
- 📖 Sinha Hikim, A. P., Bartke, A. and Russell, L. D. 1988. The seasonal breeding hamster as a model to study structure-function relationships in the testis. *Tissue & Cell*. 20 (1): 63-78.
- 📖 Sinha Hikim, A. P., Amador, A. G., Klemcke, H. G., Bartke, A. and Russell, L. D. 1989. Correlative Morphology and Endocrinology of Sertoli Cells in Hamster Testes in Active and Inactive States of Spermatogenesis. *Endocrinology*. 125 (4): 1829-1841.
- 📖 Sirotkin, A.V., and Schaeffer, H. J. 1997. Review. Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *Journal of Endocrinology*. 154: 1-5
- 📖 Turek, F.W. Losee, S.H. 1979. Photoperiodic Inhibition of the Reproductive System: A Prerequisite for the Induction of the Refractory Period in Hamsters. *Biology of Reproduction* 20: 611-616.
- 📖 Uribe Aranzábal, M. C. 2002. Aparato reproductor masculino. En: Estrada Flores, E. y Uribe Aranzábal, M. C. (compiladoras). *Atlas de Histología de Vertebrados*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México, D.F. pp. 133-148.
- 📖 Villalpando, I., H. Villafan-Monroy, D. Aguayo, A. Zepeda-Rodriguez, H. Granados-Espitia. 2000. Ultrastructure and motility of the caudal epididymis spermatozoa from the volcano mouse (**Neotomodon alstoni alstoni** Merriam, 1898). *Journal of Experimental Zoology*, 287(4): 316-326.
- 📖 Young, K.A. and Nelson, R.J. 2000. Short photoperiods reduce vascular endothelial growth factor in the testes of *Peromyscus leucopus*. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*. 279: R1132-R1137.
- 📖 Zucker, I., Lee, T. M., and Dark, J.1991. The suprachiasmatic nucleus and annual rhythms of mammals. En *The Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock*. (D. C. Klein, R. Y., Moore, and S. M. Reppert, eds). pp. 246-259. Oxford University Press, New York.

 Zucker, I., Nelson, R. J. and Prendergast, B. J. 2002. Mammalian Seasonal Rhythms: Behavior and Neuroendocrine Substrates. En Hormones Brain and Behavior, Elsevier Science, USA. pp 93-156.