



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**RITMO CIRCADIANO DE LA ACTIVIDAD LOCOMOTRIZ DE LA  
VÍBORA *CROTALUS MOLOSSUS* Y SU RESPUESTA A  
DIFERENTES TIPOS DE FOTOPERIODOS**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**ÁNGEL BERNARDO VILLARREAL MEDINA**

DIRECTOR DE TESIS: DR. VÍCTOR HUGO REYNOSO ROSALES

ASESOR INTERNO: BIÓL. CRISTÓBAL GALINDO GALINDO



Ciudad de México, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que el alumno **VILLARREAL MEDINA ANGEL BERNARDO**, con número de cuenta **305022901**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **20 de marzo de 2018** a las **11:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE** Dr. MANUEL FERIA ORTIZ
- VOCAL** Dr. VÍCTOR HUGO REYNOSO ROSALES\*
- SECRETARIO** Biól. CRISTÓBAL GALINDO GALINDO
- SUPLENTE** M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ
- SUPLENTE** M. en C. URI OMAR GARCÍA VÁZQUEZ

El título de la tesis que presenta es: **Ritmo circadiano de la actividad locomotriz de la víbora *Crotalus molossus* y su respuesta a diferentes tipos de fotoperiodos.**

Opción de titulación: Tesis

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

**ATENTAMENTE**  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
Ciudad de México, a 06 de febrero de 2018

**DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**  
DIRECTOR

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA  
DIRECCIÓN

RECIBÍ  
OFICINA DE EXÁMENES  
PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.  
M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL  
JEFE DE CARRERA

## AGRADECIMIENTOS

A mi Madre Cecilia, por ser el pilar central en mi desarrollo y alentarme en todo momento y bajo cualquier circunstancia, sé que siempre me apoyarás.

A mi Padre Juan Francisco, por apoyarme durante mis estudios y desarrollo, quién me enseñó que hay que esforzarse y trabajar duro para obtener lo que uno quiere.

A mi director de tesis, el Doctor Víctor Hugo Reynoso Rosales, por su amistad y el permitirme realizar este proyecto y su patrocinio incondicional.

A mis sinodales, cuyas revisiones y comentarios mejoraron sustancialmente este trabajo.

A mi Tía Inés que colaboró viendo interminables videos de serpientes que “no se movían”.

A mi amigo “El Charly”, por su puntualidad, paciencia e inigualable técnica para la limpieza de los ejemplares y encierros.

A la Doctora Pilar Durán Hernández, por su apoyo incondicional y encausarme por el correcto método y análisis de los ritmos circadianos.

Al Doctor Octavio Francisco González Castillo, por sus revisiones y comentarios los cuales hicieron de este un mejor trabajo.

A Martín Fuentes-Cano por su revisión y apoyo al término del trabajo

A Rebe por apoyarme con los medios visuales de alta tecnología para poder observar y analizar los videos hasta el más mínimo detalle.

A Eli, por ser mí sostén emocional y apoyo en el ocaso de este ciclo y el inicio de uno nuevo. Por tu paciencia y cooperación absoluta en todos los aspectos de mi vida.

Las serpientes para el estudio fueron facilitadas por Sandra Cruz del Herpetario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro a través de la Dra Gracia Patricia González Porter.

Este trabajo se realizó con apoyo del Instituto de Biología de la UNAM y del Buró de Investigaciones y Soluciones Biológicas A. C. (ISBio) al Dr. Víctor Hugo Reynoso.

## ÍNDICE

Resumen.....	9
1 INTRODUCCIÓN .....	10
1.1 Relojes biológicos y ritmos biológicos .....	10
1.1.1 Importancia de los ritmos biológicos .....	11
1.1.2 Clasificación de los ritmos biológicos.....	12
1.2 Propiedades generales de los ritmos biológicos .....	13
1.3 Características generales de los ritmos circadianos .....	16
1.3.1 Ubicuidad .....	16
1.3.2 Compensación de la temperatura.....	16
1.3.3 Endógenos .....	17
1.3.4 Los ritmos pueden ser sincronizados por señales ambientales.....	18
1.4 Organización general del sistema circadiano en vertebrados no mamíferos.....	19
1.4.1 La glándula pineal como reloj circadiano (órgano fotorreceptor y marcapasos) .....	19
1.4.2 La retina como oscilador circadiano.....	20
1.4.3 El núcleo supraquiasmático .....	21
1.5 Organización general del sistema circadiano en reptiles.....	21
1.5.1 Complejo pineal y ritmos de actividad .....	21
1.5.2 Sistema circadiano en serpientes .....	22
1.5.3 Factores determinantes para los ritmos, la luz y la temperatura.....	23
1.6 Biología general de la serpiente <i>Crotalus molossus</i> (Baird y Girard 1853).....	24
1.6.1 Taxonomía .....	24
1.6.2 Descripción morfológica .....	25
1.6.3 Distribución geográfica .....	25
1.6.4 Importancia.....	25
1.6.5 Conducta.....	27
1.6.6 Reproducción.....	27
1.6.7 Patrones de actividad y comportamiento ¿Son diurnas, crepusculares o nocturnas?.....	27
1.6.8 Actividad de dos subespecies a diferentes latitudes .....	28
2 JUSTIFICACIÓN .....	30

3	HIPÓTESIS.....	31
3.1	Predicciones .....	31
4	OBJETIVOS .....	32
4.1	Objetivo general .....	32
4.2	Objetivos particulares .....	32
5	MATERIALES Y MÉTODO .....	33
5.1	Obtención y mantenimiento de los animales.....	33
5.2	Sistema de registro de actividad locomotriz .....	33
5.3	Distancia recorrida .....	36
5.4	Análisis de datos.....	36
6	RESULTADOS.....	37
6.1	Sincronización paramétrica a ciclos de 12 h luz / 12 h oscuridad.....	37
6.2	Efecto de oscuridad constante (O/O) sobre el ritmo de actividad locomotriz.....	39
6.3	Efecto de luz constante (L/L) sobre el ritmo de actividad locomotriz .....	41
6.4	Comparación entre hembras y machos.....	44
7	DISCUSIÓN .....	47
7.1	Presencia de un ritmo y sincronización a la luz .....	47
7.2	Periodos en las distintas condiciones .....	48
7.3	Análisis Alpha Rho .....	49
7.4	¿Es la luz un factor determinante para la activación de ritmos y movimientos? .....	50
7.5	Consideraciones finales.....	52
8	CONCLUSIONES .....	53
9	REFERENCIAS.....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de un oscilador primario, o marcapasos, capaz de generar ritmos biológicos observables de muy diversa índole (Modificado de Gruart <i>et al.</i> , 2002).....	11
Figura 2. Rango temporal de los distintos ritmos biológicos conocidos hasta ahora, según la frecuencia (alta, media, baja), el ciclo físico (geofísico - dependiente o no), la duración de un ciclo (ultra-, circa- o infradiano), o su relación con algunos fenómenos geofísicos (mareal, lunar, anual) (Gruart <i>et al.</i> , 2002).....	14
Figura 3. Parámetros que definen un ritmo biológico ajustado a una sinusoidal (Modificado de Márquez de Prado García, 2004).....	15
Figura 4. Retraso o adelanto de fase en un ritmo biológico (Tomado de Gruart <i>et al.</i> , 2002) .....	15
Figura 5. Ejemplar adulto hembra de <i>Crotalus molossus</i> .....	24
Figura 6. Áreas potenciales de distribución geográfica de la serpiente <i>Crotalus molossus</i> en el territorio mexicano (Tomado de Correa-Cano <i>et al.</i> , 2006).....	26
Figura 7. Encierros individuales de madera utilizados para videograbación. Medidas 90 x 90 x 90 cm .....	34
Figura 8. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones de 12:12 luz/oscuridad. Las barras blancas y negras indican los periodos de luz y oscuridad con encendido de luz a las 0600 h y apagado a las 1800 h. Revelan un inicio de actividad al apagado de las luces y la mayor parte de su actividad se desarrolla durante la fase oscura.....	37
Figura 9. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en fotoperiodo luz/oscuridad 12/12. Se observa un periodo muy cercano a 24 horas para todos los individuos.....	38
Figura 10. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones de O/O. En hembras se observa actividad durante las 24 horas sin ningún patrón definido para los cuatro organismos. En machos se observa a naranja y amarillo con mucha actividad dispersa durante las 24 horas, plata igualmente lo presenta pero con bloques de actividad más definidos y blanco presenta actividad principalmente durante el horario nocturno .....	40

- Figura 11. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en condiciones de oscuridad/oscuridad. Se observa ritmo significativo para azul cada 5 y 6 horas con baja amplitud. En machos, plata muestra cuatro picos por periodos de 20.7, 16.6, 11.0 y 9.7 h; naranja exhibe cuatro picos de 3.6, 3.2, 4.6 y 5.2 h; blanco presenta tres, 25.4, 14.0 y 9.5 h y amarillo solo manifiesta uno de 3.7 h. Esto indica una alteración del ritmo tanto para hembras como para machos..... 41
- Figura 12. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en periodo L/L. En hembras, negro y verde presentan un ritmo de 20.34 h y 21.97 h respectivamente. Morado muestra un pico a 16.48 h y azul no tiene ningún ritmo significativo. En machos se observan periodos circadianos con gran amplitud para tres organismos: blanco de 24.2 h, naranja de 24.8 h. y plata de 25.49 h, además este último presenta 4 picos significativos demostrando una alteración del ritmo y amarillo presenta tres siendo el más significativo de 4.9 h..... 42
- Figura 13. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones luz/luz. Se observa actividad dispersa durante las 24 h para los cuatro organismos hembras. En los machos se puede apreciar que amarillo presenta arritmia mientras que naranja y blanco muestran una sincronización con la noche subjetiva llevando a cabo la mayor parte de su actividad después de las 24:00 hasta poco más de iniciado el día subjetivo, plata se muestra activo la mayor parte de las 24 h, con un alpha promedio de 14.039 h ..... 43
- Figura 14. Porcentaje de machos y hembras que presentaron un ritmo en las diferentes condiciones de iluminación. L/D= 12:12 horas Luz/Oscuridad. D/D= Oscuridad constante. L/L= Luz constante ..... 44
- Figura 15. Desplazamiento promedio diario en metros observado por hembras (izquierda) y machos (derecha) en condiciones de luz/oscuridad, oscuridad/oscuridad y luz/luz. Los días se muestran en el eje de las abscisas y el desplazamiento diario promedio en metros en el eje de las ordenadas ..... 46



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos para evaluar los ritmos circadianos de la serpiente de cascabel <i>Crotalus molosus</i> en condiciones de cautiverio con temperatura, humedad, sonido y alimentación constante. ....	34
Cuadro 2. Grupos de machos y hembras utilizados para experimentación diferenciados por color en el cascabel .....	35
Cuadro 3. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de luz/oscuridad 12:12. * = Periodo significativo a $p=0.05$ .....	38
Cuadro 4. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de oscuridad constante. * = Periodo significativo a $p=0.05$ .....	39
Cuadro 5. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de luz constante. * = Periodo significativo a $p=0.05$ .....	42
Cuadro 6. Parámetros exhibidos en las diferentes condiciones experimentales de los ocho individuos: presencia de un ritmo y periodo en horas. * = Periodo significativo a $p=0.05$ .....	45

## Resumen

Los estudios de ritmicidad biológica en reptiles se han enfocado principalmente a iguanas, lagartijas y tortugas, descuidando al ya marginado clado de las serpientes. Explorar los ritmos circadianos en vertebrados no mamíferos y proponer un nuevo modelo de estudio para los ritmos circadianos en reptiles, especialmente en serpientes, es imperante ya que por sus hábitos son difíciles de analizar, tanto en vida silvestre como en condiciones de laboratorio. En el presente estudio se analizó el ritmo circadiano de actividad locomotriz de la víbora de cascabel *Crotalus molossus* en condiciones de luz/oscuridad (L/O), oscuridad/oscuridad (O/O) y luz/luz (L/L). De las cuatro hembras y cuatro machos estudiados: en L/O todos mostraron un ritmo circadiano con gran amplitud, mientras que en O/O en las hembras no se manifestó y en dos machos sí, y en L/L los machos desplegaron un ritmo circadiano robusto y dos hembras uno con baja amplitud. Los resultados de este estudio demuestran que *C. molossus* exhibe un ritmo de actividad locomotriz con un periodo de 24 h sincronizado por la luz a temperatura constante. Así mismo se presentó actividad nocturna en todos los organismos que mostraron ritmo en L/O. No obstante, la actividad puede presentarla tanto diurna como nocturna o crepuscular, ya que las serpientes modifican sus hábitos dependiendo del clima, edad, dieta, caza, etc., pero son la luz y la temperatura las señales más importantes de sincronización. De la misma forma se distinguieron patrones de comportamiento definidos por el sexo ya que hembras y machos desplegaron diferentes respuestas ante los experimentos, probablemente asociado a una estacionalidad reproductiva. En conclusión, el sistema circadiano en reptiles es complejo y muy diverso, lo que es válido para las lagartijas puede no serlo para las serpientes. *Crotalus molossus* puede ser considerada como un buen modelo para el estudio de los ritmos circadianos en serpientes. Es importante realizar estos estudios con organismos silvestres, juveniles y de diferente distribución para refutar o corroborar lo analizado en este trabajo.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Relojes biológicos y ritmos biológicos

Una de las principales fuerzas de la evolución ha sido la constante búsqueda para independizarse de la incertidumbre generada por un ambiente en constante cambio. Ante esta presión selectiva los organismos han desarrollado mecanismos que permiten predecir las variaciones, entre estos, los relojes biológicos han sido de los más ampliamente desarrollados. Mediante el uso de relojes biológicos los organismos pueden anticiparse y adaptarse a cambios ambientales cíclicos en la naturaleza.

Un reloj biológico se define como un sistema celular capaz de generar un orden temporal en las actividades del organismo. Debe tener la capacidad de oscilar con un periodo regular, y usar dichas oscilaciones como una referencia temporal interna. Este sistema debe permitir la adecuada interacción del dominio temporal entre el organismo y su ambiente (Aschoff, 1981). El reloj biológico necesita un oscilador o marcapasos, que es un elemento neuronal que genera órdenes funcionales de carácter rítmico, es decir, es una estructura interna (endógena), capaz de generar los ritmos en el organismo y de medir el tiempo en ausencia de señales periódicas externas (Moore-Ede *et al.*, 1982).

Un sistema puede ser multioscilandor. En estos sistemas se encuentran los osciladores primarios, que no dependen de otros para generar un ritmo biológico y los secundarios, que están bajo el control de algún oscilador primario. Incluso en organismos inferiores este sistema puede comprenderse mejor si tiene más de un oscilador. Sólo un arreglo multioscilandor podría ser responsable de todos los diversos comportamientos de los ritmos en los mamíferos (Pittendrigh, 1981; Moore-Ede *et al.*, 1982). Los requisitos básicos de un oscilador primario, se muestran en la figura 1.

Los ritmos biológicos son sucesos cíclicos o variaciones de las actividades fisiológicas y conductuales que presentan cierta periodicidad y aparecen en toda la escala filogenética. Los organismos unicelulares, tanto procariotas como eucariotas ya presentan procesos rítmicos en muchas de sus actividades, desde bacterias (Paranjpe y Sharma, 2005), dinoflagelados (Sanvisens, 1989), hongos (Dunlap y Loros, 2005), pasando por el reino vegetal (Yanovsky, 2001), los invertebrados pluricelulares (Sanvisens, 1989) y hasta los vertebrados (Tellería, 1991). Debido a esto son considerados una forma de adaptación al medio (Pittendrigh, 1981). Los ritmos biológicos se remontan al origen de la vida, hace 3,500 millones de años. Algunos autores postulan que las células primigenias no hubieran sobrevivido mucho tiempo si no hubieran desarrollado una organización temporal que restringiera a la noche los procesos sensibles a la luz ultravioleta (Pittendrigh, 1981), ya que en la atmósfera primitiva no existían gases que protegieran a los organismos contra este tipo de radiación. De

la misma forma, la sincronía alcanzada entre el metabolismo del organismo y su ambiente le confiere una ventaja adaptativa (Pittendrigh y Minis, 1964; Ouyang *et al.* 1998).

Resumiendo, un reloj biológico es la estructura biológica que genera un ritmo determinado y un ritmo biológico se refiere a la actividad biológica observada.

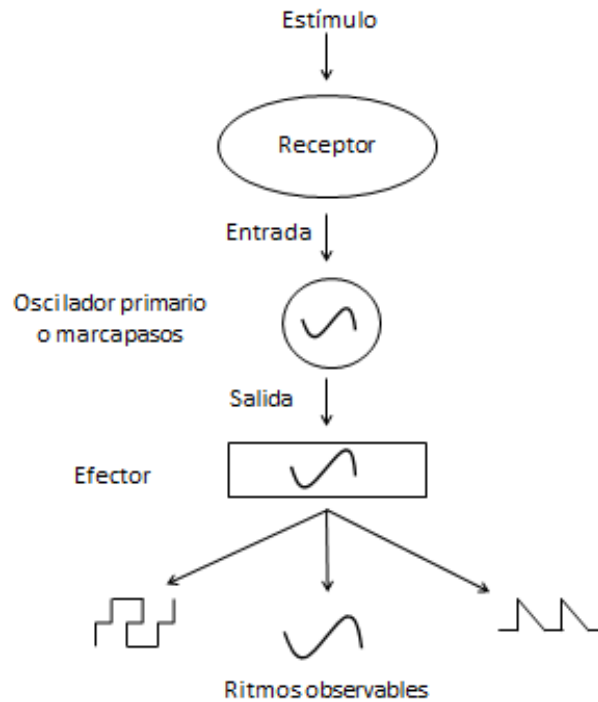


Figura 1. Esquema de un oscilador primario o marcapasos capaz de generar ritmos biológicos observables de muy diversa índole (modificado de Gruart *et al.*, 2002).

### 1.1.1 Importancia de los ritmos biológicos

Dentro de la naturaleza existen cambios impredecibles y cambios predecibles. Estos últimos ocurren con una frecuencia determinada. La organización temporal de las funciones de los organismos permite activar mecanismos efectores antes de cambios ambientales. Esta anticipación permite responder con la máxima eficacia a dichos cambios suponiendo un menor gasto de energía, es lo que se llama homeostasis predictiva (Cardinali, 1999). Los ritmos diarios permiten ordenar ciertas actividades según las limitaciones diarias de los organismos (termorregulación en reptiles, humedad en anfibios) o sus peculiares estrategias de forrajeo, refugio, etc. (Tellería, 1991) y los ritmos estacionales ordenan comportamientos más específicos como la reproducción o la migración y, en condiciones extremas de temperatura o disponibilidad de alimento, inducen estrategias como la hibernación o el letargo (Paranjpe y Sharma, 2005).

### 1.1.2 Clasificación de los ritmos biológicos

Orlando Park en 1940 subdividió los fenómenos rítmicos en dos categorías principales: los ritmos exógenos y ritmos endógenos. Los primeros se refieren a una respuesta directa a cambios físicos en el ambiente y no persisten cuando las condiciones se mantienen constantes y los segundos a que continúan al menos por un tiempo bajo condiciones constantes. Dos décadas después Cloudsley-Thompson en 1961 indicó que probablemente la mayoría de los ritmos que parecen exógenos, en realidad representan la expresión de relojes celulares endógenos que cambian de fase uno con el otro cuando se anula la influencia de la periodicidad ambiental.

Algunos ritmos se pueden clasificar de acuerdo a periodos geofísicos, otros con base a su frecuencia. Tienen duraciones desde milisegundos como en el músculo fibrilar de insectos, hasta de varios años como los ciclos de densidad poblacional, pero los más estudiados son los que presentan un periodo aproximado de 24 horas, denominados circadianos (latín *circa*, cerca, alrededor de, y *dies*, día), término acuñado por Franz Halberg en 1959. Estos ritmos, se toman como referencia para el estudio de los demás. Los ritmos circadianos exógenos y endógenos se definen de la siguiente manera:

- Ritmos exógenos. El ritmo es respuesta pasiva a las variaciones de un factor ambiental. En su ausencia no hay ritmo.
- Ritmos endógenos. Se generan por estructuras internas del individuo  
Se dividen en:
  - Ritmos no geofísico-dependientes: ciclos breves (actividad neuronal, latido cardiaco, respiración, secreciones hormonales pulsátiles, fases del sueño).
  - Ritmos geofísico-dependientes: ciclos medios (diarios, semanales, mensuales); ciclos largos (estacionales o anuales).

De acuerdo a varios autores (Cloudsley-Thompson 1980; Moore-Ede *et al.*, 1982; Haus *et al.*, 1998) se consideran las siguientes clasificaciones de los ritmos:

- Resultado de la adaptación del organismo a variaciones cíclicas del ambiente:
  - Circamareales, circadianos, circalunares y circanuales.
- De acuerdo a su frecuencia, tomando como referencia los circadianos:
  - Ultradianos, con frecuencia mayor a los circadianos y ocurren más de una vez durante un día.
  - Circadianos, con frecuencia cercana a 24 horas.

- Infradianos, con frecuencia menor a los circadianos y requieren más de un día para su repetición.

Gruart *et al.* (2002) proponen otra clasificación en la cual se divide a los fenómenos biológicos de carácter cíclico en ritmos de baja, mediana y alta frecuencia:

- Baja frecuencia, con periodos desde seis días hasta varios años (ritmos circalunares, estacionales y circanuales).
- Mediana frecuencia, con periodos entre 30 minutos y 6 días (ritmos ultradianos, circadianos e infradianos).
- Alta frecuencia, con periodos desde 0.5 milisegundos hasta 30 minutos (ritmos de actividad eléctrica neuronal y los ritmos cardíaco y respiratorio).

Muchos de estos ritmos coexisten dentro del mismo organismo. La interacción entre ritmos de distintas frecuencias puede determinar la aparición rítmica de ciertos eventos fisiológicos. Por ejemplo, la variación rítmica de los niveles de cortisol o de la hormona adenocorticotrópica es el reflejo de la interacción de ritmos circadianos y ultradianos (Haus *et al.*, 1998). En la figura 2 se puede observar una comparación de las diversas clasificaciones y algunos ejemplos.

## 1.2 Propiedades generales de los ritmos biológicos

Los componentes de un ritmo biológico se pueden analizar mediante una función sinusoidal (Figura 3).

Los parámetros que definen un ritmo son los siguientes (Márquez de Prado García, 2004):

- **Periodo.** Intervalo de tiempo entre dos acontecimientos idénticos; es decir, la duración de un ciclo completo. Se denomina como **T** (periodo del ritmo manifiesto) o *tau*  $\tau$  (periodo del ritmo endógeno).
- **Frecuencia.** Número de veces que ocurre el fenómeno en un intervalo de tiempo.
- **Amplitud.** Diferencia entre el valor máximo (o mínimo) y el valor medio de una oscilación. Define la magnitud de la variación y se estima generalmente del valor máximo (cresta) al valor mínimo (valle) del ciclo.
- **Valor medio.** Es la media aritmética de todos los valores obtenidos dentro de un ciclo. Es el valor alrededor del que oscila la variable.
- **MESOR (Midline Estimating Statistics Of Rhythm).** Es una media ajustada a ritmos que difiere de la media aritmética cuando los datos no son equidistantes y/o no cubren un número entero de ciclos.

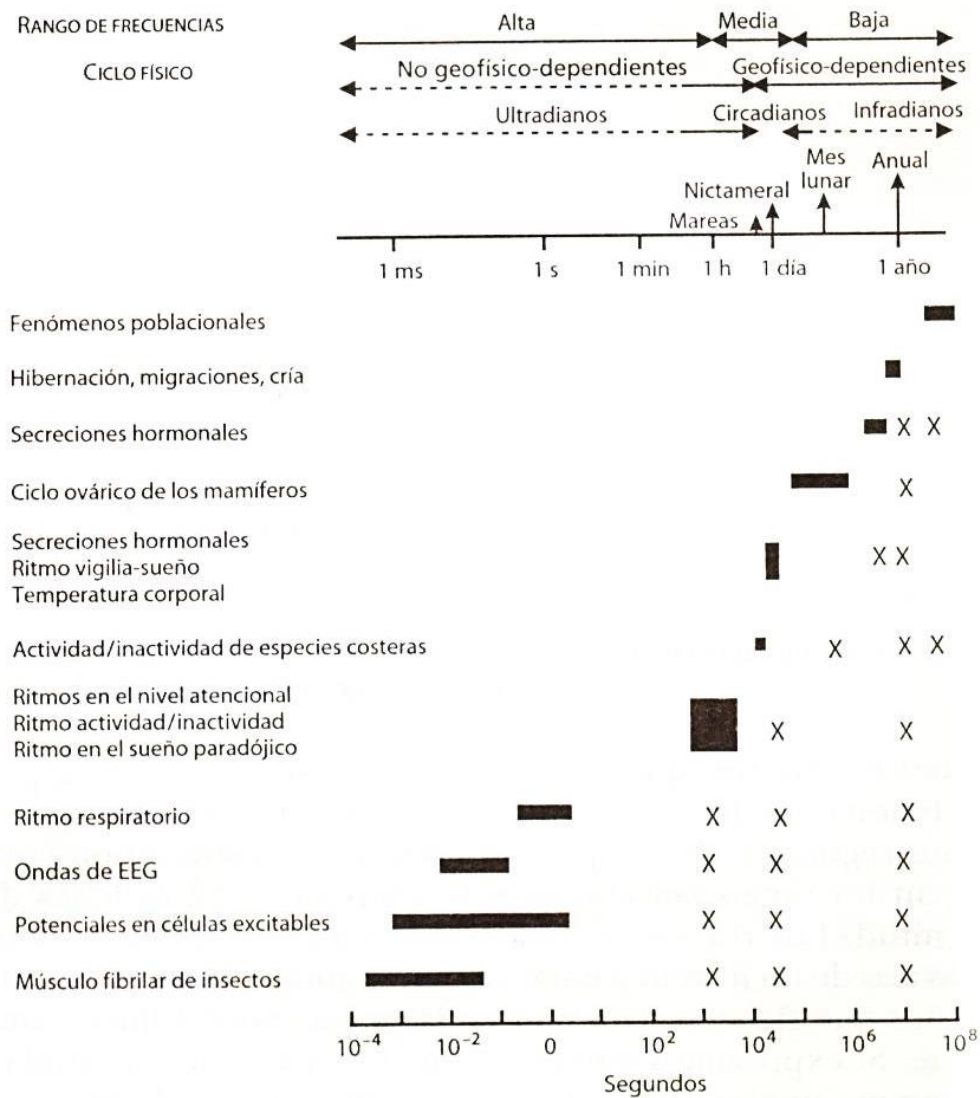


Figura 2. Rango temporal de los distintos ritmos biológicos conocidos hasta ahora; según la frecuencia (alta, media, baja), el ciclo físico (geofísico - dependiente o no), la duración de un ciclo (ultra-, circa- o infradiano), o su relación con algunos fenómenos geofísicos (mareal, lunar, anual) (Gruart *et al.*, 2002).

- **Fase.** Momento en que ocurre un hecho característico dentro del ciclo en estudio. Para caracterizar la fase normalmente se determina la acrofase. La representación de las acrofases de los distintos ritmos se denomina mapa de fases e indica la relación temporal entre los distintos procesos fisiológicos, apareciendo con una secuencia característica dentro de un ciclo.
- **Acrofase.** Valor máximo de la variable a lo largo de un periodo.
- **Batifase.** Valor mínimo de la variable a lo largo de un periodo.
- **Marcador de fase.** Evento característico seleccionado para estimar la fase.
- **Relación o ángulo de fase.** Diferencia en la comparación entre dos ritmos distintos.

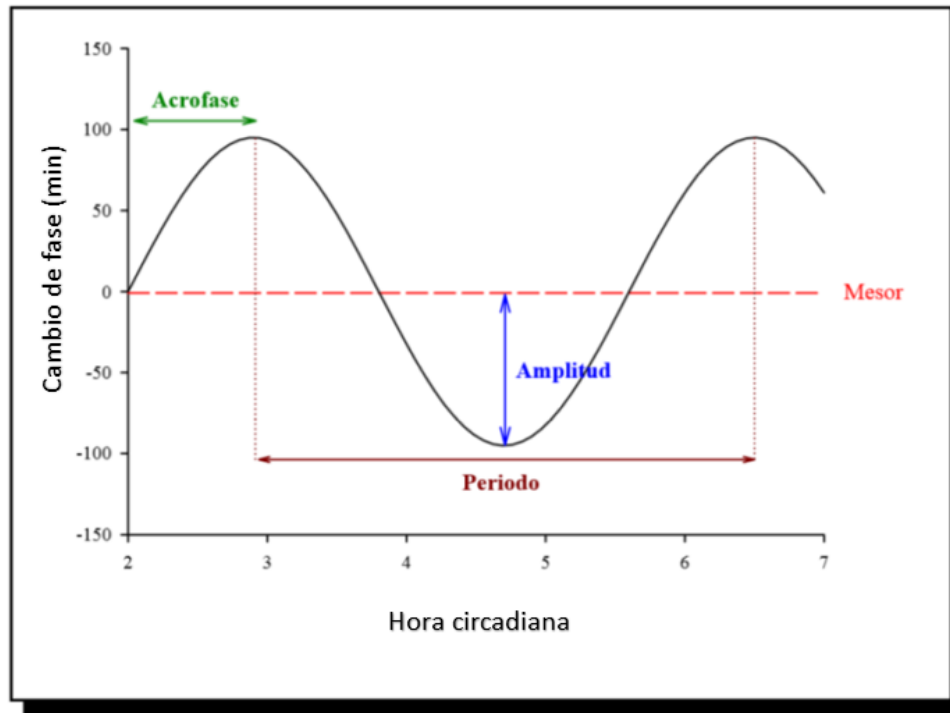


Figura 3: Parámetros que definen un ritmo biológico ajustado a una sinusoidal (modificado de Márquez de Prado García, 2004).

Dentro de los ritmos biológicos se define como  $\alpha$  al segmento del ciclo durante el cual el organismo se encuentra activo, y  $\rho$  al segmento en el que el organismo se encuentra inactivo.

Los ritmos biológicos pueden presentar cambios en la fase en que ocurre un hecho característico del mismo, que se conoce como marcador de fase. Si el cambio consiste en que el marcador de fase se realiza después de lo esperado, lo llamamos retraso de fase. Cuando, por el contrario el marcador de fase ocurre antes de lo esperado, entonces lo llamamos adelanto de fase (Gruart *et al.* 2002) (figura 4).

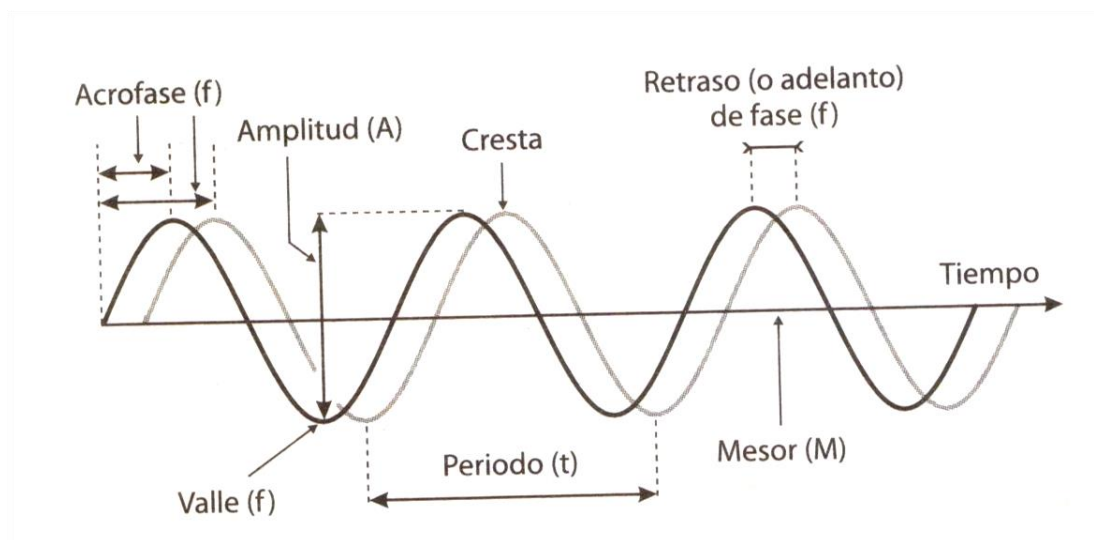


Figura 4. Retraso o adelanto de fase en un ritmo biológico (Tomado de Gruart *et al.*, 2002).



### **1.3 Características generales de los ritmos circadianos**

Para cumplir con su trabajo, un ritmo circadiano debe funcionar a la frecuencia de rotación de la Tierra (un ciclo cada 24 horas), así como mantener una relación de fase específica con el ciclo día-noche. Aun así, el periodo de los ritmos circadianos raramente es igual a 24 horas (Daan, 2010).

En términos generales, los ritmos circadianos se definen por las siguientes características:

- Ubicuidad.
- Son independientes de la temperatura.
- Son endógenos.
- Están determinados genéticamente.
- Pueden ser sincronizados por factores ambientales (luz, temperatura, humedad, etc.).
- Muestran independencia a la retroalimentación conductual.

Si no se cumplen con estos criterios, el ritmo no es considerado circadiano y entonces se le denomina ritmo diario, el cual es la respuesta a señales ambientales, es decir un ritmo exógeno estímulo-respuesta (Pittendrigh y Minis, 1964).

#### **1.3.1 Ubicuidad**

Los ritmos circadianos de las funciones de reproducción celular, nutrición, crecimiento, reposo, exploración etc., se han puesto de manifiesto en todos, o casi todos los seres vivos (Merrow *et al.*, 2010). Es notable que a pesar de la gran diversidad de estrategias adaptativas con que evolucionaron los distintos grupos de seres vivos para cumplir estas funciones, todos presenten una ritmicidad circadiana muy conspicua. Esta ubicuidad sugiere que tal vez la ritmicidad circadiana se haya originado como una propiedad intrínseca a la vida tal como se manifiesta en la Tierra (Paranjpe y Sharma, 2005).

#### **1.3.2 Compensación de la temperatura**

Para mantener su precisión en cualquier latitud y época del año, los relojes biológicos tienen la capacidad de corregir el efecto que pudieran tener los cambios en la temperatura del ambiente sobre su funcionamiento. Se conocen dos hipótesis: a) la primera expone que en los relojes biológicos existe una enzima (o un grupo de enzimas) que no modifica su actividad en un amplio rango de temperaturas; o, b) la más aceptada, la función del reloj depende de un juego de enzimas con distintas temperaturas óptimas delicadamente ajustadas entre sí (Gruart *et al.*, 2002). La compensación de la temperatura es el ejemplo más notable de la capacidad de los relojes circadianos para medir con gran precisión cada una de las horas que forman un ciclo completo (Pittendrigh, *et al.*, 1991).

### 1.3.3 Endógenos

Durante muchos años se pensó que los ritmos de los organismos eran de origen exógeno, impuesto por un algún factor generado por la rotación de la Tierra (Daan, 2010). Durante el siglo XIX hubo algunos investigadores como de Mairan o Charles Darwin que realizaron observaciones para desmentir este supuesto; pero no fue sino hasta la década de 1920 que Anthonia Kleinhoonte y Erwin Bünning, por separado, con sus investigaciones en las leguminosas *Canavalia ensiformis* y *Phaseolus multiflorus* respectivamente, resolvieron el problema. Los dos concluyeron que los ritmos no pueden ser atribuidos a ningún factor relacionado a la rotación de la Tierra y más bien se originan dentro del organismo (Kleinhoonte, 1929; Bünning, 1930). Otros estudios importantes son los que realizó en 1974 Colin Pittendrigh en los que comprobó que los ritmos circadianos persisten aún en ausencia de los sincronizadores. De sus investigaciones se puede concluir que los organismos son capaces de generar los ritmos biológicos sin necesidad de estímulos ambientales (o sincronizadores) debido a que poseen relojes internos que pueden seguir oscilando en condiciones constantes, llamados comúnmente relojes biológicos.

A lo largo del tiempo geológico los organismos han sido expuestos a oscilaciones de luz y temperatura muy similares, ya que los ciclos ambientales que genera la Tierra ocurren desde antes del inicio de la vida, y no es de sorprendernos que el comportamiento y el metabolismo de la mayoría de los organismos sigan un horario cercano a las 24 horas.

Si se evita la presencia de estos ciclos ambientales el ritmo no desaparece, sino que se mantiene con un periodo ligeramente diferente al que ocurría en presencia del sincronizador. A esto se le conoce como oscilación espontánea o libre curso (*free running*). El periodo de un ritmo en libre curso, designado con la letra griega tau ( $\tau$ ), no siempre es el mismo que el del fenómeno geofísico que actúa como sincronizador. A consecuencia de lo anterior puede variar el periodo del ritmo entre distintos organismos de una especie, por lo que después de varios ciclos, los sujetos se desincronizan entre sí, aunque para cada individuo el periodo en oscilación espontánea sea muy preciso (Aschoff, 1981).

El tiempo de exposición a la luz, así como su intensidad juegan un papel importante tanto en el periodo como en la amplitud de los ritmos. Jürgen Aschoff (1981) demostró que el incremento de la intensidad de la luz produce la disminución del periodo en libre curso en animales diurnos, y su alargamiento en animales nocturnos. Por su parte, la oscuridad continua produce el efecto inverso; es decir, el periodo en libre curso de los animales nocturnos se acorta mientras que el de los animales diurnos se alarga. A este comportamiento se le conoce como la Regla de Aschoff (Aschoff, 1981).

### **1.3.4 Los ritmos pueden ser sincronizados por señales ambientales**

La sincronización (*entrainment*) es el ajuste del periodo y la fase del ritmo biológico a consecuencia de las señales ambientales. A los estímulos ambientales capaces de sintonizar o reajustar el ritmo de un individuo a la evolución del ciclo externo les llamamos, sincronizadores (T) o *Zeitgeber*, palabra en alemán que se traduce como “dador de tiempo” (Pittendrigh, 1981). La sincronización permite que exista plasticidad en los programas temporales de los organismos, lo que confiere una enorme relevancia adaptativa a los ritmos biológicos (Gruart *et al.* 2002).

Existen dos protocolos generales que se utilizan para describir cómo se lleva a cabo la sincronización a ciclos de luz/oscuridad (Pittendrigh y Minis, 1964):

- Sincronización no paramétrica o discreta.
- Sincronización paramétrica o continua.

#### **Sincronización no paramétrica o discreta**

Desarrollado por Pittendrigh en la década de 1950 en sus trabajos con *Drosophila* sp. manifiesta que el marcapasos se restablece una o dos veces al día cuando el entorno ofrece señales de tiempo discretas: el amanecer y el anochecer (Daan, 2010). Es decir, los efectos no paramétricos de la luz son efectos de tiempo al inicio y al final de los pulsos de luz (o pulsos más largos; por ejemplo, fotoperiodos).

Para llevar a cabo una sincronización discreta se dan pulsos de luz de corta duración en el inicio del día subjetivo (intervalo de actividad) y noche subjetiva (intervalo de reposo) del organismo y, de esta manera podemos observar si su reloj biológico es capaz de sincronizarse y anticipar la llegada de la luz (Merrow *et al.*, 2010), a éste tipo de protocolo en donde se generan pulsos de luz cada 12 horas se le conoce como fotoperiodo esqueleto. En un animal nocturno, el lapso de actividad se invierte y entonces sería llamado noche subjetiva.

#### **Sincronización paramétrica o continua**

Desarrollado por Aschoff expone que el sistema circadiano puede responder de forma continua al nivel de intensidad de la luz con una modulación de su velocidad. Por la aceleración y desaceleración en curso, puede ser capaz de ajustar su frecuencia a la del medio ambiente (Aschoff, 1999). Es decir, los efectos paramétricos de la luz son efectos de intensidad y longitud de onda sobre el ritmo.

Para generar una sincronización continua, se le da al organismo información continuamente, como fotoperiodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (12L/12O). Modulando la intensidad de la luz durante el ritmo en libre curso y aplicando la regla de Aschoff como se mencionó anteriormente,

al aumentar la intensidad de la luz se tiende a acortar el periodo del ritmo en animales diurnos y aumentarlo en animales nocturnos (Aschoff, 1981).

#### **1.4 Organización general del sistema circadiano en vertebrados no mamíferos**

El sistema circadiano en vertebrados no mamíferos está compuesto por múltiples osciladores autónomos que regulan diversas salidas dentro del mismo organismo y con varias entradas fóticas (Underwood, 1977, 1981, 1983; Tosini y Menaker, 1998). Dependiendo de la especie se pueden considerar diversas estructuras asociadas a la regulación de los ritmos circadianos (Ellis *et al.*, 2007):

- Glándula pineal o epífisis.
- Retina (ojos).
- Ojo parietal.
- La región análoga al núcleo supraquiasmático en el hipotálamo de los mamíferos.

Estas cuatro estructuras son los principales marcapasos del sistema circadiano en vertebrados no mamíferos y se encuentran relacionados y conectados vía hormonal y neural (Underwood, 2000). Para que una estructura se considere marcapasos se requiere que cumpla con los siguientes requisitos:

- Al remover la estructura desaparece el ritmo manifiesto.
- En condiciones *in vitro*, la oscilación de alguna variable biológica del marcapasos persiste.
- Al trasplantarlo en un animal al que se le ha lesionado la misma estructura se reestablece el ritmo con la fase del donador.

##### **1.4.1 La glándula pineal como oscilador circadiano (órgano fotorreceptor y marcapasos)**

Prácticamente todos los vertebrados poseen un órgano pineal. Éste órgano se origina de la evaginación del techo del diencéfalo y en el adulto se comunica con el cerebro por medio de un tallo. Este órgano no es sólo un fotorreceptor, sino que también puede actuar como marcapasos circadiano (Minutini *et al.*, 1995). En peces, anfibios, en la tuátara y en algunas especies del orden squamata encontramos un segundo componente llamado órgano parapineal u ojo parietal (Underwood, 1990).

En la glándula pineal se sintetiza la hormona indolamina conocida como melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), que también se produce, aunque en menor cantidad, en retinas cultivadas de lampreas (Menaker y Tosini, 1996), peces (Cahill, 1996), anfibios (Anderson y Green, 2000), reptiles (Tosini y Menaker, 1998) y mamíferos (Tosini y Menaker 1996). Esta hormona influye en gran medida en los ritmos circadianos ya que la síntesis y secreción de melatonina aumentan durante el periodo oscuro del día y se mantiene a un nivel bajo durante las horas de luz del día (Underwood, 1990). Así, la

melatonina pineal se difunde rápidamente al torrente sanguíneo y puede afectar, por lo tanto, la función de órganos y tejidos lejanos. Una función general de la melatonina se puede describir como el proveer una señal que informa sobre los cambios de iluminación durante el día dentro del organismo, y que genera un marco temporal alrededor del cual se pueden organizar eventos internos.

Gaston y Menaker en 1968 demostraron que la extirpación de la glándula pineal elimina el ritmo circadiano de locomoción en el gorrión (*Passer domesticus*). Años más tarde se confirmó que el trasplante de la glándula pineal restablece el ritmo de locomoción en gorriones que eran arrítmicos, porque previamente se les había extirpado dicha glándula (Gruart *et al.*, 2002).

Actualmente se han acumulado datos que evidencian la presencia de un reloj circadiano en la glándula pineal de algunos peces (*Esox lucius*, *Heteroneuphis fossilis*, *Lamprata japonica*), reptiles (*Anolis carolinensis*, *Gallotia galloti*) y aves (*Padda oryzivora*, *Sturnus vulgaris*). En todas estas especies se ha demostrado que la extirpación de esta glándula elimina los ritmos circadianos (Minutini *et al.*, 1995; Gruart *et al.*, 2002). Por el contrario, la extirpación de la glándula pineal en la lagartija *Podarcis sicula* altera en forma muy importante el periodo de los ritmos endógenos, pero no los elimina (Foà, 1991; Innocenti *et al.*, 1996; Minutini *et al.*, 1995), poniendo de manifiesto que la glándula pineal tiene un papel importante en la organización circadiana de los reptiles. Sin embargo, los ritmos de algunas especies de vertebrados no mamíferos pueden persistir aún sin la glándula pineal o los ojos. Por ejemplo en las lagartijas *Sceloporus occidentalis* y *Dipsosaurus dorsalis* la actividad locomotriz persiste después de una pinealectomía (extirpación quirúrgica de la glándula pineal) y enucleación (extirpación quirúrgica del globo ocular) en un mismo animal (Underwood, 1981; Janik *et al.*, 1990; Foà, 1991). Por consiguiente, un sistema oscilador que genera y mantiene un ritmo de actividad locomotriz debe existir fuera de la glándula pineal y de la retina en estas especies.

#### **1.4.2 La retina como oscilador circadiano**

Como se mencionó anteriormente la retina también sintetiza melatonina. Diversos estudios demuestran que las retinas de diversos vertebrados como la codorniz japonesa *Coturnix japonica*, *Gallus domesticus*, la rana *Xenopus laevis* y las lagartijas *Sceloporus olivaceus*, *Tiliqua rugosa* y la iguana común *Iguana iguana*, contienen osciladores circadianos que median los procesos fisiológicos involucrados en la sensibilidad visual y un reloj circadiano que controla el ritmo de metabolismo de indolaminas (Firth *et al.* 1999; Anderson y Green, 2000; Miranda-Anaya *et al.*, 2002; Bartell *et al.*, 2004).

### 1.4.3 El núcleo supraquiasmático

Mientras el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo ventral es el marcapasos dominante en el sistema circadiano de mamíferos, el papel de esta estructura en el sistema circadiano reptiliano es poco conocido. Experimentos han demostrado que lesiones hipotalámicas producen arritmia en la actividad locomotriz de diversas especies de lagartijas (Janik *et al.*, 1990; Minutini *et al.*, 1995). Bertolucci y Foà (1998) han extendido estos descubrimientos al demostrar que lagartijas intactas se sincronizan a inyecciones diarias de melatonina y lagartijas con lesiones en el NSQ no lo hacen, sugiriendo que el NSQ es el blanco de la melatonina pineal.

## 1.5 Organización general del sistema circadiano en reptiles

### 1.5.1 Complejo Pineal y ritmos de actividad

Entre los marcapasos que se han encontrado en la clase reptilia los más estudiados son la glándula pineal, el núcleo supraquiasmático del hipotálamo y la retina, que contiene múltiples fotorreceptores circadianos. Entre los fotorreceptores extrarretinales destacan la glándula pineal y el ojo parietal; así como fotorreceptores extrapineales localizados dentro del cerebro, llamados también fotorreceptores del cerebro profundo (Underwood y Menaker, 1976).

El órgano pineal (glándula pineal o *epiphisis cerebri*) se encuentra presente en Chelonia, Squamata y Rhyncocephalia, pero no en Crocodilia, mientras que el ojo parietal (órgano parapineal o tercer ojo) se encuentra en Rhyncocephalia y en algunas especies de lagartijas (Tosini, 1997). Varios estudios electrofisiológicos sugieren que estos órganos son fotosensibles y muestran una respuesta nula a ondas infrarrojas (Miller y Wolbarsht, 1962). Este complejo pineal juega un papel como marcapasos al mantener un control rítmico del comportamiento y fisiología, así como de fotorecepción circadiana al sincronizar ritmos endógenos a ciclos exógenos (Quay, 1979).

En reptiles la melatonina se produce principalmente en la glándula pineal, ojo parietal, retina y glándula de Harder, pero se ha demostrado que la glándula pineal es la principal fuente de melatonina en sangre, ya que la pinealectomía elimina los niveles de melatonina en el sistema (Janik *et al.*, 1990; Foà *et al.*, 1992; Tosini y Menaker, 1996), así también se sugiere que el complejo pineal y la melatonina están involucrados en el control de los procesos de termorregulación (Tosini, 1997).

En *Iguana iguana* se ha confirmado la presencia de un ritmo circadiano endógeno de temperatura corporal cuando los animales se mantienen a una temperatura constante (Tosini y Menaker, 1995); la parietalectomía (remoción quirúrgica del ojo parietal) no afecta este ritmo, mientras que la pinealectomía lo elimina (Menaker y Tosini, 1996)

### 1.5.2 Sistema circadiano en serpientes

Pocos estudios se han realizado en el clado de las serpientes, pero se podría pensar que el sistema general de ritmicidad circadiana tiene las mismas bases que en el resto de los reptiles. Sin embargo, Tosini (1997) ha demostrado que el complejo pineal en la clase Reptilia presenta una gran variabilidad, tanto a nivel de estructura como neuroendocrino. En este tenor el autor comenta que “las investigaciones no se han llevado a un análisis significativo o han proporcionado resultados fragmentados que a menudo son difíciles, si no imposibles de interpretar”.

A manera de epítome, hago mención de algunos datos importantes indicados en estudios realizados sobre ritmos, glándula pineal y niveles de melatonina en diferentes especies de serpientes:

- En la boa de arena *Eryx conicus* de actividad nocturna, el ciclo luz/oscuridad resultó ser un mejor sincronizador de la actividad locomotriz que fluctuaciones en la temperatura (Griffiths, 1984)
- En la serpiente de agua *Nerodia rhombifera* los niveles de melatonina en suero muestran un claro ritmo diario que es afectado por el fotoperiodo y la temperatura (Tilden y Hutchinson, 1993).
- Se han demostrado cambios estacionales en la concentración sérica de melatonina para *Thamnophis sirtalis* (Mendonca *et al.*, 1995).
- La glándula pineal de serpientes adultas no contiene células fotorreceptoras, y el tipo celular principal es la célula parenquimatosa pineal. La mayor parte de la innervación pineal parece ser aferente, probablemente lleva información fótica y proyecta a las áreas pretectal y tegmental del cerebro (Quay, 1979).
- La glándula pineal y la melatonina pueden afectar la condición gonadal en la serpiente *Natrix piscator* (Halder y Pandey, 1989).
- En *Pituophis melanoleucus* inyecciones de melatonina disminuyeron significativamente la temperatura media corporal preferida (Lutterschmidt *et al.*, 1997).
- En la serpiente africana *Lamprophis fuliginosus* inyecciones de melatonina no demostraron un efecto en la selección térmica (Lutterschmidt *et al.*, 2002). De la misma manera en este estudio, no hubo diferencias significativas entre la termorregulación en la escotofase o en la fotofase de *L. fuliginosus* sin tratar. Sus resultados sugieren que algunos animales de hábitos nocturnos no responden a concentraciones elevadas de melatonina.
- En las especies *Typhlops pusilla* y *T. biminiensis* se comprobó un ritmo endógeno circadiano con preferencias nocturnas (Thomas y Thomas, 1978).

La participación de la glándula pineal y la melatonina en la expresión del comportamiento sexual han resultado de poco interés para los investigadores y se han realizado escasos estudios. Algunos resultados demuestran que la pinealectomía en otoño inhibe el comportamiento de cortejo en la mayoría de las serpientes *Tamnophis sirtalis parietalis* a la primavera siguiente (Nelson *et al.*, 1987; Crews *et al.*, 1988). Una investigación más a fondo mostró que individuos de *T. sirtalis* a los cuales se les había extirpado la glándula pineal mantenían niveles detectables de melatonina; y los machos que mostraron comportamiento de cortejo conservaron un ritmo diario de melatonina. Por el contrario, los animales que no mostraron un ritmo de melatonina tampoco exhibieron un comportamiento de cortejo (Mendonca *et al.*, 1996).

### **1.5.3 Factores determinantes para los ritmos, la luz y la temperatura**

Al analizar varios estudios se comprobó que las serpientes pertenecientes a las familias Boidae y Viperidae pueden realizar la mayoría de sus procesos biológicos como reproducción, forrajeo, búsqueda de refugio, interacciones entre predador y presa (Kardong y Mackessy, 1991) o localizando refugio térmico (Krochmal y Bakken, 2003) sin necesidad de los ojos ya que cuentan con otros sistemas sensoriales ya sea quimiorreceptores como el órgano vomeronasal y el pasaje nasal (Graves y Duvall, 1985; Chiszar *et al.*, 1986), mecano-receptores en la piel (Proske, 1969), así como un órgano termorreceptor (fosetas termosensibles) (Campbell *et al.*, 2002). El órgano termorreceptor cobra especial importancia en los vipéridos, ya que éstos pueden detectar hasta un cambio de 0.001 grados Celsius (Ebert y Westhoff, 2006). Este sistema infrarrojo no sólo se utiliza en orientación sino también en la discriminación de las formas (Bakken y Krochmal, 2007); posiblemente también cuenten con órganos térmicos accesorios (Chiszar *et al.*, 1986). Cabe mencionar que la temperatura afecta directamente la tasa de los procesos fisiológicos (Lutterschmidt *et al.*, 2002).

Saint Girons (1971) resumió la actividad circadiana en los escamados indicando que existe un ritmo circadiano endógeno que se altera principalmente por la necesidad de termorregulación, excepto en los animales de bosques tropicales ya que en estos lugares la temperatura media anual se mantiene estable. También afirmó que la luz es a menudo importante cuando la temperatura no es muy variable diurnamente. Al igual que las serpientes de los estudios anteriormente mostrados, en la tortuga *Testudo hermanni* la temperatura es más importante que la luz para la expresión rítmica de la melatonina (Vivien-Roels y Arendt, 1983).



## 1.6 Biología general de la serpiente de cascabel de cola negra *Crotalus molossus* (Baird y Girard, 1853)

### 1.6.1 Taxonomía

Phylum: Chordata

Clase: Reptilia

Orden: Squamata

Suborden: Serpentes

Familia: Viperidae

Género: *Crotalus*

Especie: *Crotalus molossus* (Baird & Girard, 1853)

Subespecies: *Crotalus molossus molossus*

*Crotalus molossus nigrescens*

*Crotalus molossus oaxacus*

Sinónimos:

*Crotalus molussus*

*Crotalus mollossus*

*Caudisona molossus*



Figura 5. Ejemplar adulto hembra de *Crotalus molossus*.

### 1.6.2 Descripción morfológica

*Crotalus molossus* (Baird y Girard, 1853), también llamada Víbora de Cascabel de cola negra (Figura 5) es una serpiente de tamaño grande y cuerpo robusto que llega a medir hasta 1.25 m. Tiene cabeza triangular y las escamas aquilladas. La coloración dorsal varía del negro al verde y café oscuro al café grisáceo, con una serie de 24 a 34 manchas romboidales con bordes claros. La parte posterior de la cola es más oscura que el resto del cuerpo (Canseco-Márquez y Gutiérrez-Mayén, 2006). El número de escamas caudales es de 24 en los machos y de 21 en las hembras; el número de escamas en la zona ventral es de 164-186 en los machos y de 168 - 187 en las hembras; la escama anal es simple (Uribe-Peña *et al.*, 1999). Se puede apreciar un ejemplar adulto hembra en la figura 5.

### 1.6.3 Distribución geográfica

*C. molossus* es una especie generalista con una fuerte afinidad por el terreno rocoso y con frecuencia se encuentra en o cerca de barrancos, acantilados o taludes. Su distribución es amplia (figura 5) con tres subespecies (Liner y Casas-Andreu, 2008). El taxón más meridional es *C. m. oaxacus* (Gloyd, 1948) habita en Oaxaca y el sureste de Puebla; *C. m. nigrescens* habita, desde Michoacán y el norte de Puebla por el centro de México hasta el norte en Chihuahua central occidental (Alvarado-Díaz y Suazo-Ortuño, 2006); y, *C. m. molossus* habita desde Sonora, Chihuahua y Coahuila hacia el centro de Texas, Nuevo México y Arizona (Uribe-Peña *et al.*, 1999; Campbell y Lamar, 2004).

Los registros de altitud indican que vive desde el nivel del mar hasta 2,930 m. Las asociaciones vegetales varían desde pino-encino (*Pinus* y *Quercus* spp.), bosques secos tropicales a praderas de mezquite, y ocasionalmente desiertos dominados por gobernadora (*Larrea tridentata*) (Degenhardt *et al.*, 1996; Campbell y Lamar, 2004).

### 1.6.4 Importancia

El hecho de no sean animales carismáticos debido a su estado coloquial de “venenosa y mortal” no es óbice para que sean de gran interés desde diversos puntos de vista, por ejemplo, forma parte de tramas tróficas y puede actuar como control biológico de poblaciones de especies consideradas plaga, como la de algunos roedores (Campbell y Lamar, 2004). Desde hace siglos, culturalmente han tenido y todavía mantienen un importante simbolismo en las culturas prehispánicas (Castellón-Huerta, 2001; Jáuregui, 2001); así mismo es parte de los símbolos patrios.

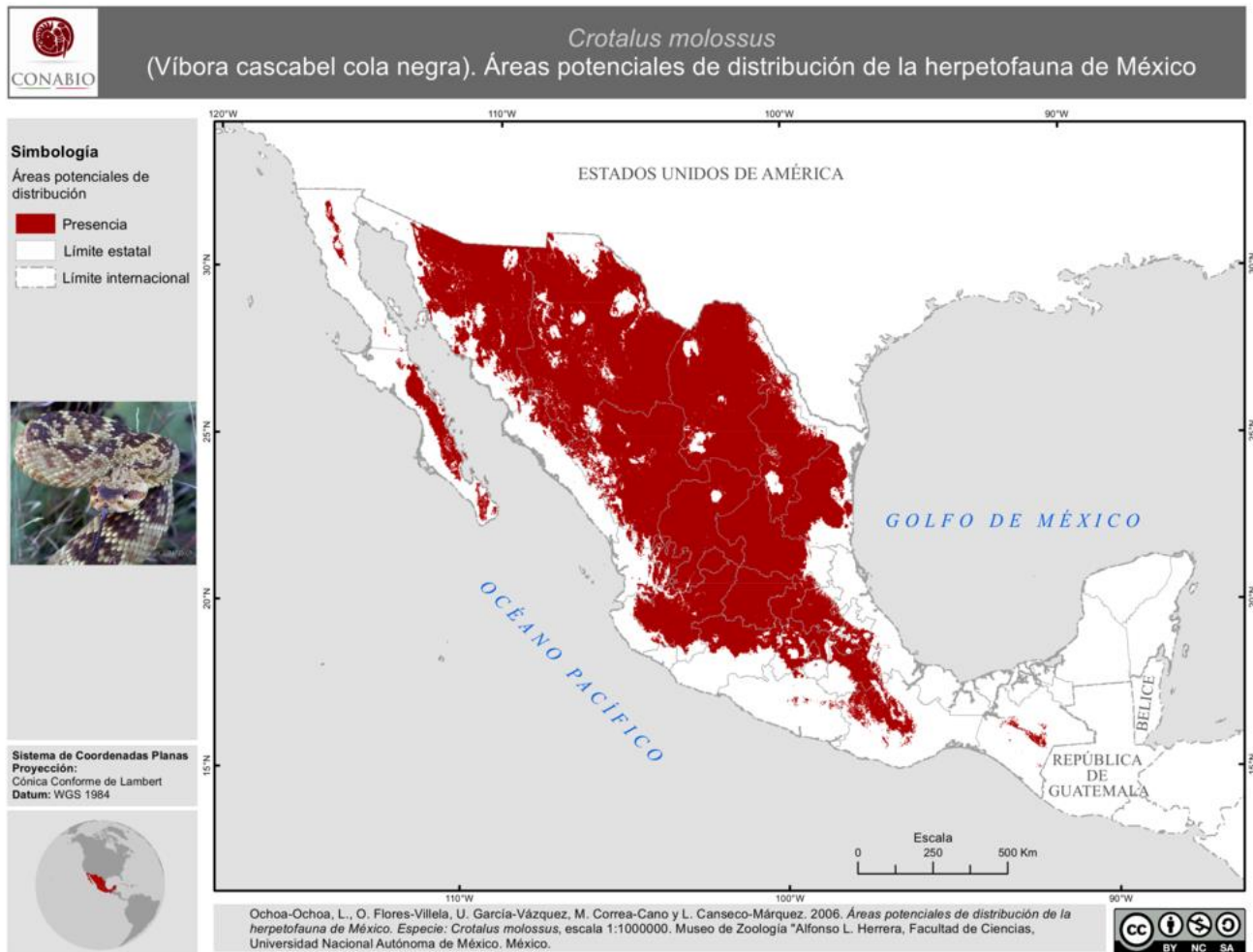


Figura 6. Áreas potenciales de distribución geográfica de la serpiente *Crotalus molossus* en el territorio mexicano (Tomado de Correa-Cano *et al.*, 2006).

En México las víboras de cascabel en general se han utilizado desde tiempos prehispánicos de diversas maneras (Sahagún, 1985): su piel es aprovechada en la industria peletera y cosmética, su carne es comestible y prácticamente todo el organismo (vísceras, sangre, carne, piel, colmillos y crótalos), es utilizado en remedios medicinales (Gómez-Álvarez *et al.*, 2007). Cabe mencionar que dentro de la cultura popular se cree que las serpientes de cascabel tienen efecto curativo contra la enfermedad del cáncer, por lo tanto es muy buscada por el mercado naturista (Gómez-Álvarez *et al.*, 2007).

Esta especie se encuentra en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010 bajo la categoría PR (Sujeta a protección especial), en la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) en el apéndice III y en la lista roja de la Unión Internacional para la conservación para la naturaleza (UICN) en categoría Least Concern.

### **1.6.5 Conducta**

Es considerada dócil y de retirada rápida. Ciertos individuos cascabelean vigorosamente y adquieren una postura amenazante cuando son sorprendidos (Degenhardt *et al.*, 1996). Campbell y Lamar (2004) reportaron a esta especie sobre los árboles, algunos en las copas, posiblemente tomando el sol o forrajeando en los nidos de las aves. En Nuevo México, Degenhardt *et al.* (1996) colectaron *C. molossus* durante todos los meses a excepción de febrero y diciembre; de las 178 serpientes colectadas en este estudio, el 45% de las serpientes fueron encontradas durante julio y agosto. Los especímenes colectados durante enero fueron presumiblemente tomados al término del invierno donde pueden ser observadas tomando el sol en los días más calientes. En un estudio en las montañas de Tucson en el desierto de Sonora, Beck (1995) observó a esta especie en las laderas rocosas, pero a finales del verano y el otoño también se avistaron en arroyos y mesetas de creosota o gobernadora (*Larrea tridentata*). Los refugios se localizan entre rocas o en grietas en las laderas rocosas orientadas hacia el suroeste. Beck (1995) calculó un rango hogareño promedio de 3,49 ha y un movimiento medio anual de 14,99 km, también registró la temperatura corporal media de las serpientes activas, que fue de 29,60°C.

### **1.6.6 Reproducción**

La edad aproximada a la primera reproducción es a los cinco años. El número máximo de reproducciones por año es una y su sistema es poligínico (Klauber y McClung, 1982). Como todos los vipéridos, *C. molossus* es una especie vivípara y el tamaño de la camada es de 3 a 16 crías (Campbell y Lamar, 2004). La mortalidad en los primeros cinco años es de 22.7% a 59.3% (Greene *et al.*, 2002).

El apareamiento de *C. m. molossus* y *C. m. nigrescens* que habitan en el noroeste y centro de México se observa en la primavera y el nacimiento de las crías ocurre entre junio y agosto (Armstrong y Murphy, 1979). También se reportó el apareamiento en Arizona al inicio de la temporada de lluvias desde finales de julio a principios de septiembre (Greene *et al.*, 2002); y en México, Balderas Valdivia *et al.* (2009) reportaron el inicio de la temporada de reproducción en la Reserva del Pedregal de San Ángel al principio del verano. Pero con base en varios estudios *C. molossus* muy probablemente presente almacenamiento de esperma a largo plazo durante su dormancia en invierno, dándose la ovulación y fertilización a finales de la primavera (Schuett, 1992).

### **1.6.7 Patrones de actividad y comportamiento, ¿Son diurnas, crepusculares o nocturnas?**

Al ser poiquilotermos, el principal factor que gobierna la actividad de las serpientes es la temperatura. La luz al parecer no resulta un elemento esencial. Esto se hace notorio en los vipéridos ya que al poseer órganos termosensibles no necesitan de la luz visible para identificar su entorno.

No es claro si la actividad de la víbora de cascabel es preferentemente diurna o nocturna. *Crotalus molossus* se ha registrado tanto diurna como nocturna, prefiriendo la actividad nocturna ya que algunos autores mencionan un mayor porcentaje de individuos avistados en las horas nocturnas. Sin embargo, otros autores han reportado a esta víbora con actividad principalmente diurna y que puede modificarla a nocturna debido a altas temperaturas durante el día (Armstrong y Murphy, 1979; Hardy y Greene, 1999; Balderas Valdivia *et al.* 2009). Tozetti *et al.* (2009) hipotetizan esta capacidad de cambio de hábito dependiendo de la temperatura ambiental como un patrón para el género *Crotalus*.

Varios estudios proporcionan datos sobre la ecología de *Crotalus molossus*. Se han realizado seguimientos de esta especie en el estado de Arizona, EUA, en las montañas Chiricahua alrededor de Portal (Beck, 1995; Greene, 1999; Hardy y Greene, 1999; Green *et al.*, 2002). En éstos se reporta activa del 1 de marzo al 15 de octubre, pero es común observarlas en el invierno, e incluso se han encontrado forrajeando durante los meses de invierno. Durante el verano, la mayoría de las serpientes son crepusculares o nocturnas (la mayor parte de la actividad es de 16:00 a 22:00 horas), pero en invierno, primavera y otoño se encuentran a menudo al mediodía, cuando la temperatura es más alta.

### **1.6.8 Actividad de dos subespecies a diferentes latitudes**

Se muestra la actividad registrada de *Crotalus molossus molossus* y *C.m. nigrescens* de acuerdo a varios autores desde 1979.

#### ***Crotalus molossus molossus***

Se ha registrado como diurna en meses fríos y nocturna en meses cálidos (Armstrong y Murphy, 1979). En el estado de Texas, Tennant (1984) la registra activa casi todo el año, en el norte del estado se encuentra activa de julio a octubre y puede asolearse en los días cálidos en el invierno. Así mismo, en el sureste de Arizona, Beck (1995) registra su actividad principalmente de marzo a octubre. Después de llover, es común encontrarlas calentándose sobre las carreteras (Klauber y McClung, 1982).

#### ***Crotalus molossus nigrescens***

Balderas-Valdivia *et al.* (2009) reportaron que en el Pedregal de San Ángel es una especie principalmente diurna; pero observaron dos ejemplares adultos activos cerca de las 21:00 h, situación que no había sido previamente reportada. En la literatura previa solamente se señalan periodos de actividad crepusculares para la especie en la Cuenca de México (Uribe-Peña *et al.*, 1999). Aparentemente la actividad es principalmente diurna en otras latitudes, aunque puede ser nocturna en los meses más calientes del verano (Armstrong y Murphy, 1979).

Balderas-Valdivia *et al.* (2009), reportaron no haber observado ejemplares activos en el Pedregal durante los meses de diciembre a febrero, lo que sugiere que la especie estiva durante una cuarta parte del año. Creen las serpientes pudieran salir ocasionalmente de sus refugios en la temporada fría después varios días soleados.

Se han realizado estudios radiotelemétricos para analizar los patrones de actividad de *C. m. nigrescens*. Se observa que las serpientes se desplazan aproximadamente 43 m por día durante la temporada activa y pueden viajar hasta 15 km en promedio en una sola temporada (Beck, 1995). Por medio de métodos de radiotelegrafía por implantación intraperitoneal Madrid-Sotelo y Balderas-Valdivia (2008) encontraron que el principal periodo de actividad es durante los meses de marzo a noviembre, pero es en la temporada seca, de marzo a mayo, cuando recorren mayores distancias (Balderas-Valdivia *et al.*, 2009).

*C. molossus* caza la mayoría de las veces en la noche (Hardy y Greene, 1999; Tozetti y Martins, 2012), período que coincide con el pico de actividad de sus presas más comunes (roedores) (Hardy y Greene, 1999). Sin embargo, también se reporta por revisión de muestras estomacales que se alimenta de lagartijas como *Sceloporus torquatus* y *S. grammicus*, organismos estrictamente diurnos. Se piensa que los roedores constituyen la dieta principal de las serpientes adultas, mientras que en serpientes jóvenes se detecta con más frecuencia restos de lagartijas (Balderas Valdivia *et al.*, 2009). Lo anterior sugiere que dentro de una misma población, los organismos juveniles pueden presentar una actividad diurna mientras que los adultos exhiben una actividad nocturna debido principalmente al tipo de alimentación, en este caso de la presa.

Al ser depredadores de emboscada pueden esperar a su presa por horas e incluso días (Hardy y Greene, 1999; Greene *et al.*, 2002). Beck (1995) menciona que una serpiente puede sobrevivir con dos o tres comidas grandes durante un año, lo cual elimina la probabilidad de un oscilador sincronizado al alimento, tan común en mamíferos (Stephan, 2002; Davidson *et al.*, 2003).

Los diferentes patrones de actividad observados aparentemente indican que las serpientes de cascabel pueden cambiar su periodo de actividad de acuerdo a las condiciones en las que viven (Uribe-Peña *et al.*, 1999; Campbell y Lamar, 2004; Balderas-Valdivia *et al.*, 2009). Éstas pueden resguardarse en oquedades, cuevas, o bajo rocas donde la luz es escasa o nula si el día es caliente o pueden asolearse si el día es frío (Uribe-Peña *et al.*, 1999).

El presente estudio pretende conocer la ritmicidad de la actividad locomotriz de la serpiente de cascabel bajo periodos controlados en laboratorio de luz y oscuridad bajo el mismo régimen térmico y así poder valorar la importancia de la luz en su comportamiento.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Durante el curso de esta investigación no se encontraron reportes acerca de los ritmos circadianos en víboras de cascabel. Los estudios de ritmicidad biológica en reptiles se han enfocado principalmente a iguanas, geckos, anolis, lagartijas y tortugas (Meneghini, 1967; Foà, 1991; Shaw, 1993; Tosini y Menaker, 1995, 1998; Bartell *et al.*, 2004; Miranda-Anaya *et al.*, 2000, 2002, 2007).

La carencia de estudios tanto etológicos como sobre ritmos circadianos en serpientes en general hace necesario el realizar este tipo de investigación, la cual aportará nuevos conocimientos sobre la biología de la especie, así como sobre los ritmos circadianos en vertebrados no mamíferos. De esta manera estos hallazgos podrán servir de referencia para estudiar las características conductuales circadianas en víboras de cascabel así como la fisiología de este grupo.

Es importante conocer el periodo de actividad de estos organismos, así como realizar experimentos con diferentes tiempos de iluminación-oscuridad para saber en qué momento del día o noche pudieran realizar sus actividades de locomoción, ya sea con el propósito de forrajeo, búsqueda de refugio, gestación, etc. Dicha información, hasta ahora confusa, posibilitaría averiguar en qué momento son susceptibles a depredadores o cuales son los mejores momentos para el muestreo. Así mismo, debido a su amplia distribución geográfica, resulta de interés el conocer las posibles adaptaciones rítmicas a las distintas latitudes en que habita.

No obstante el status de protección existente para *Crotalus molossus*, la especie se encuentra amenazada debido a múltiples factores, entre otros: a) la importancia económica que ésta representa para la industria peletera, b) el temor hacia la especie y c) la creciente fragmentación y destrucción de su hábitat debido al desarrollo urbano y agrícola. Es urgente diseñar planes de manejo adecuados para su conservación, para lo cual será necesario investigar a fondo las bases biológicas del comportamiento de la especie.

Debido a que son principalmente depredadores de emboscada, pasan largos periodos de tiempo inmóviles en espera de presas potenciales. Por lo tanto, la comprensión de los efectos de ciclos lumínicos sobre la actividad locomotriz contribuirá sustancialmente a la predicción de su gasto de energético (Secor y Nagy, 1994; Beaupre, 1996).

### **3. HIPÓTESIS**

Debido a que la luz y la temperatura son dos señales importantes que interactúan para dirigir la actividad locomotriz en las víboras de cascabel, al mantener a la temperatura como una variable constante, se podrá evaluar la importancia de la luz como un factor que regula esta actividad. Si las serpientes presentan ritmicidad circadiana en la actividad locomotriz, entonces la exposición a diferentes fotoperiodos revelará las características endógenas de este ritmo.

#### **3.1 Predicciones**

1. Si sometemos a los organismos a periodos de 12 horas luz y 12 horas oscuridad con una temperatura estable invariable, éstos mantendrán un periodo actividad/descanso cercano a 24 horas, sincronizándose con el ciclo luz/oscuridad.
2. Si las serpientes se condicionan a periodos de oscuridad constante después de fotoperiodos 12L/12O, se observará el periodo del ritmo en libre curso.
3. Si las serpientes se condicionan a periodos de luz constante se observará una pérdida del ritmo.
4. Si se presenta ritmo en las tres condiciones de iluminación entonces la luz no es el factor más determinante para la actividad locomotriz de esta especie.



## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Comprobar la existencia de un ritmo circadiano en la actividad locomotriz en individuos adultos de la víbora *Crotalus molossus* en diferentes condiciones de iluminación simulada y temperatura constante y, en caso de presentarse ritmos, describir sus características básicas.

### **4.2 Objetivos particulares**

1. Evaluar la presencia de ritmos circadianos en la actividad locomotriz en organismos adultos de *Crotalus molossus* en respuesta a diferentes condiciones de iluminación artificial, tales como sincronización paramétrica, iluminación constante y oscuridad constante manteniendo las demás variables de temperatura, humedad, sonido y alimentación constantes.
2. Conocer y describir las características principales de alpha, rho y tau del ritmo circadiano en la actividad locomotriz en organismos adultos de *Crotalus molossus*.
3. Analizar y comparar las posibles diferencias en los periodos mostrados entre hembras y en machos.
4. Evaluar el valor de la especie para futuros estudios sobre ritmos circadianos en serpientes.

## 5. MATERIALES Y MÉTODO

### 5.1 Obtención y mantenimiento de los animales

En el Bioterio para Experimentación Zoológica (BEZ) del Instituto de Biología de la UNAM, se mantuvieron en cautiverio ocho serpientes de cascabel de la especie *Crotalus molossus*, cuatro hembras y cuatro machos facilitadas por el Herpetario de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro, donde nacieron y fueron mantenidas en condiciones constantes desde entonces. Antes de los experimentos, las serpientes se mantuvieron en encierros individuales y estabilizadas a un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad y con condiciones constantes de temperatura, humedad, sonido y alimentación, para que no alterasen los ritmos del reloj circadiano que pudieran afectar los experimentos. Fueron alimentadas cada 15 días, como se tenían acostumbradas, con ratones adultos vivos cepa CD-1, proporcionados por el bioterio de la Facultad de Medicina (UNAM), y con agua disponible *ad libitum* hasta los experimentos. Para evitar causales debidas a factores intrínsecos de las serpientes, se utilizaron serpientes lo más similares en edad, peso y tamaño. Los animales variaron de 84 a 101 cm (media= 93.25 cm; D.S:= 5.33 cm) en longitud total y de 540 a 701 g (media= 592.87 g; D.S:= 48.45 g) en peso.

### 5.2 Sistema de registro de actividad locomotriz

La actividad fue registrada mediante el uso de cámaras de videgrabación (marca Meriva) posicionadas a 90 cm sobre el área de prueba y se revisó cada video de manera individual tomando como apoyo los métodos utilizados por Hayes y Duvall (1991), Kardong y Mackessy (1991), Safer y Grace (2004), Young *et al.* (2001) y Young y Aguiar (2002). Se consideraron posiciones y movimientos para contar los segundos de actividad del organismo. En resumen, cada vez que la serpiente generara un movimiento significativo de acuerdo a los estudios mencionados anteriormente, se contaba la cantidad de segundos desde el inicio hasta el término y se anotaron en intervalos de 30 minutos.

Los ocho organismos fueron aclimatados por 15 días (Firth y Keenaway, 1989; Bartell *et al.*, 2004) en encierros individuales de madera especiales para videgrabación con medidas de 90 x 90 cm de base y 90 cm de altura (figura 6) y fueron sujetos a diferentes fotoperiodos:

1. Sincronización paramétrica: 12 horas luz/12 horas oscuridad, referidas también como 12hL/12hO y L/O, con encendido de luces a las 6:00 y apagado a las 18:00 horas.
2. Regla de Aschoff y/o arritmia: Luz continua, referidas también como 24hL/0O o L/L.
3. Libre curso en oscuridad continua: referidas también como 0L/24O o O/O.

Cuadro 1. Tratamientos para evaluar los ritmos circadianos de la serpiente de cascabel *Crotalus molossus* en condiciones de cautiverio con temperatura, humedad, sonido y alimentación constante.

48h	1er día		2o día	
	12 h	12 h	12 h	12 h
12hL/12hO				
24hL/0O				
0L/24O				

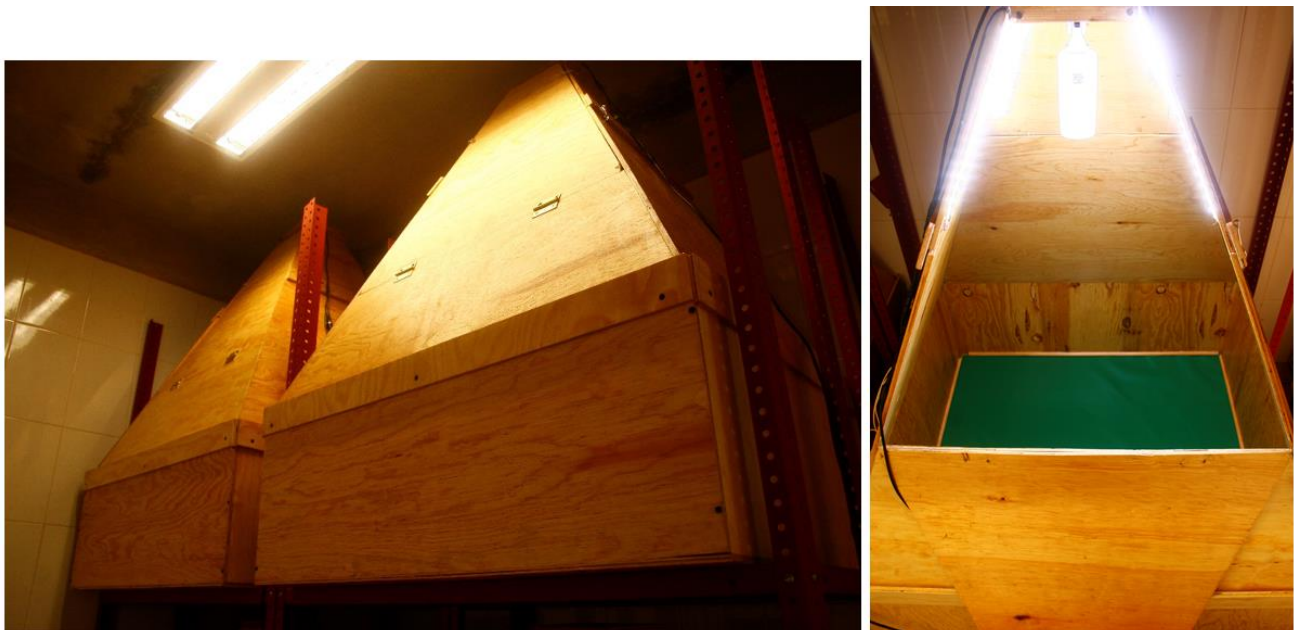


Figura 7. Encierros individuales de madera utilizados para videograbación.

Medidas 90 x 90 x 90 cm.

Se manejaron dos grupos para la experimentación (cuadro 2): el primero comprendiendo cuatro machos, y el segundo cuatro hembras; y cada individuo se diferenció por un color marcado en el cascabel.

Con el fin de que la luz fuera la única variable importante en la determinación de los ritmos circadianos, durante todo el experimento las serpientes se mantuvieron en un ambiente constante de temperatura ambiental a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , humedad de 70% de acuerdo a los parámetros preferidos por *C. molossus* en la naturaleza (Armstrong y Murphy, 1979; Uribe-Peña *et al.*, 1999). La temperatura y la

humedad fueron mantenidas con ayuda de un radiador, termostato digital y un termo-higrómetro. Adicionalmente se eliminó el sonido, y las serpientes se alimentaron cada 15 días, de acuerdo al régimen alimenticio bajo el cual habían sido mantenidas hasta entonces.

Cuadro 2. Grupos de machos y hembras para experimentación diferenciados por color en el cascabel.

Grupo 1: Hembras	Grupo 2: Machos
Azul	Plata
Verde	Blanco
Negro	Naranja
Morado	Amarillo

Antes y después de cada condición lumínica se aplicó un periodo de oscuridad constante de 10 días, evitando así, que la condición previa afectase a la siguiente.

Los experimentos se realizaron de la siguiente manera:

- a) 15 días de aclimatación en encierro individual con fotoperiodo 0hL//24hO.
- b) 10 días con fotoperiodo 12hL/12hO realizando grabación del 5° al 10° día.
- c) 10 días con oscuridad constante.
- d) 5 días en grabación con fotoperiodo 0hL/24hO.
- e) 10 días en oscuridad constante.
- f) 10 días con fotoperiodo 24hL/0hO (luz constante) realizando grabación del 5° al 10° día.

La luz del fotoperiodo fue provista mediante el uso de luz blanca con Diodos Emisores de Luz (LED) ya que este tipo de luz produce muy poco calor y el generado no alteró la temperatura de los encierros, a una distancia de 70 a 90 cm sobre el área de prueba. La periodicidad de la luz fue mantenida mediante el uso de temporizadores digitales. La intensidad de iluminación fue medida con un luxómetro y se mantuvo similar entre los encierros:

- Encierro 1: 54.6 200 LUX.
- Encierro 2: 52.3 200 LUX.
- Encierro 3: 56.5 200 LUX.
- Encierro 4: 53.5 200 LUX.

Se analizó el porcentaje de individuos que presentaron ritmo y se calculó alpha y rho en cada condición lumínica. Se compararon los promedios de actividad y de reposo entre los diferentes sexos y se confrontaron estos resultados para verificar si existe alguna diferencia de ritmicidad con base al sexo.

### **5.3 Distancia recorrida**

Para conocer el trayecto recorrido de los organismos, en los videos se trazó una cuadrícula de 10 cm x 10 cm sobre la superficie de 90 cm x 90 cm de estudio, y se sumó la distancia total de movimiento que generó cada organismo diariamente. Esto se realizó en condiciones de luz/oscuridad, oscuridad/oscuridad y luz/luz, por ser, la primera, las condiciones naturales; la segunda, para conocer la distancia recorrida en libre curso; y, la tercera para verificar si existe arritmia.

### **5.4 Análisis de datos**

Los datos recopilados fueron agrupados en programa Excel en intervalos de 30 min y analizados utilizando los programas Chronos-Fit y Actiview. Con estos programas se realizó un análisis ANOVA y posteriormente un análisis de Cosinor, que ajusta los datos a una función sinusoidal a partir de la cual se generó un actograma de doble gráfica. Los periodos fueron calculados por medio de un periodograma de  $X^2$  (Sokolove y Bushell, 1978). Posteriormente se realizó una transformación rápida de Fourier, la cual genera un periodograma que muestra los picos de actividad que representan un ritmo. Finalmente se realizó una comparación entre machos y hembras en ritmos generados, periodos encontrados y duración promedio de alpha y rho.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Sincronización paramétrica a ciclos de 12 h luz / 12 h oscuridad

Las hembras de la serpiente de cascabel *Crotalus molossus* mostraron un claro periodo circadiano en luz/oscuridad como se pueden observar en el cuadro 3 ( $p = 0.05$ ). Se observa que las serpientes muestran poco tiempo de actividad (alpha), moviéndose entre 2.1 y 5.2 horas promedio diarias (Cuadro 3). En los actogramas (Figura 7) se observa una sincronización en todos los individuos con la fase nocturna del ciclo, con inicio de actividad al apagado de la luz; morado muestra una anticipación al apagado de luces de tres horas. En el periodograma (Figura 8), se distingue una actividad de gran amplitud mostrando un ritmo muy marcado cercano a 24 horas y se despliega sólo un pico significativo para cada organismo. La curva promedio de actividad para machos y hembras muestra una alpha promedio total de 3.4775 h, mientras que el de rho es de 21.4602 h.

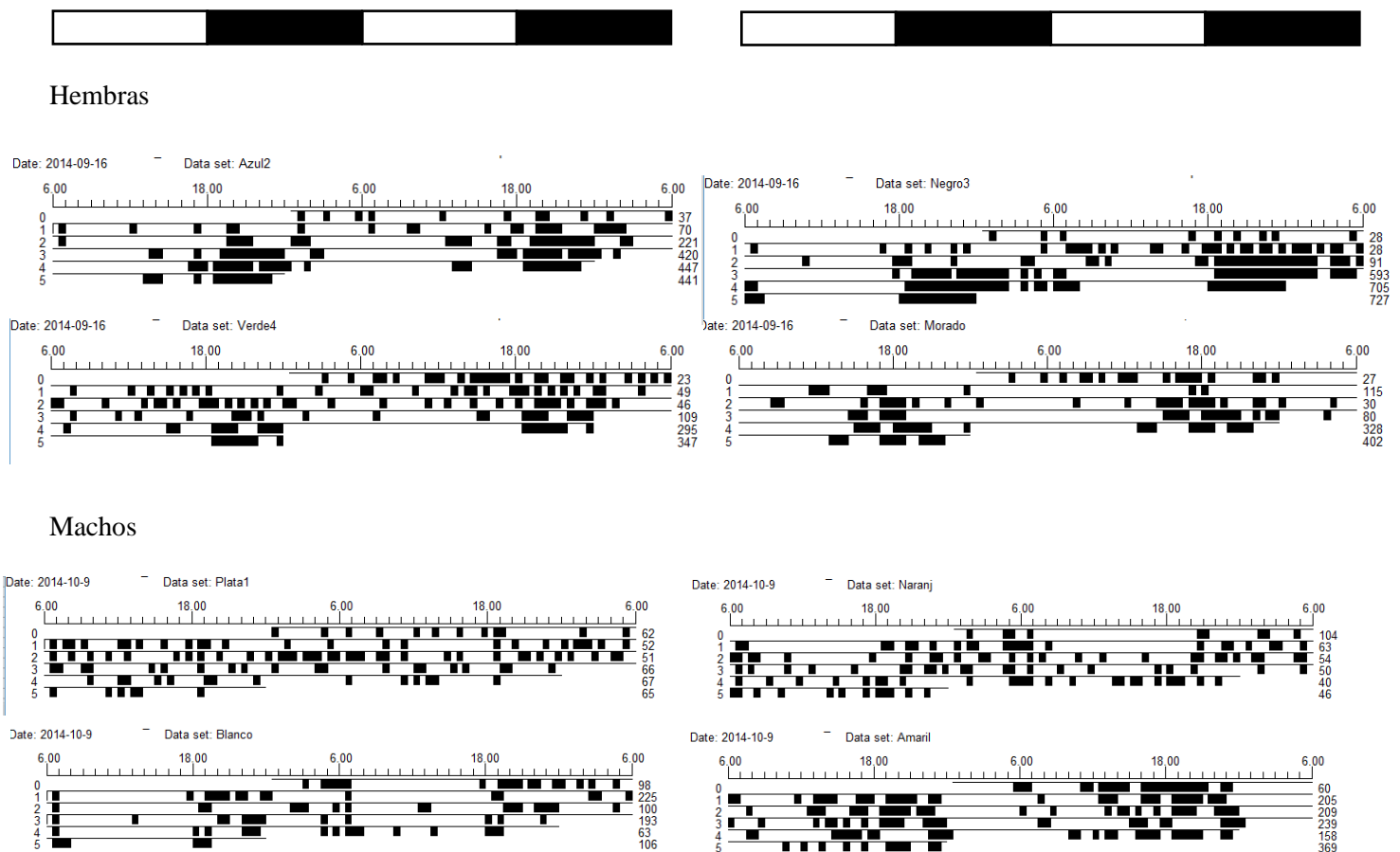


Figura 8. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones de 12:12 luz/oscuridad. Las barras blancas y negras indican los periodos de luz y oscuridad con encendido de luz a las 0600 h y apagado a las 1800 h. Revelan un inicio de actividad al apagado de las luces y la mayor parte de su actividad se desarrolla durante la fase oscura.

Cuadro 3. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de luz/oscuridad 12:12. \* = Periodo significativo a  $p = 0.05$ .

<b>Hembras L/O</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Azul</b>	<b>Verde</b>	<b>Negro</b>	<b>Morado</b>
Periodo $\tau$ (horas)	23.9*	24.8312*	24.5128*	24.8312*
Alpha	4.142	2.116	5.226	2.386
Rho	19.848	21.876	18.724	21.604
<b>Machos L/O</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Plata</b>	<b>Blanco</b>	<b>Naranja</b>	<b>Amarillo</b>
Periodo $\tau$ (horas)	24.2025	25.1579*	23.6049	24.8312*
Alpha	0.812	1.842	0.714	3.004
Rho	23.178	22.15	23.276	20.988

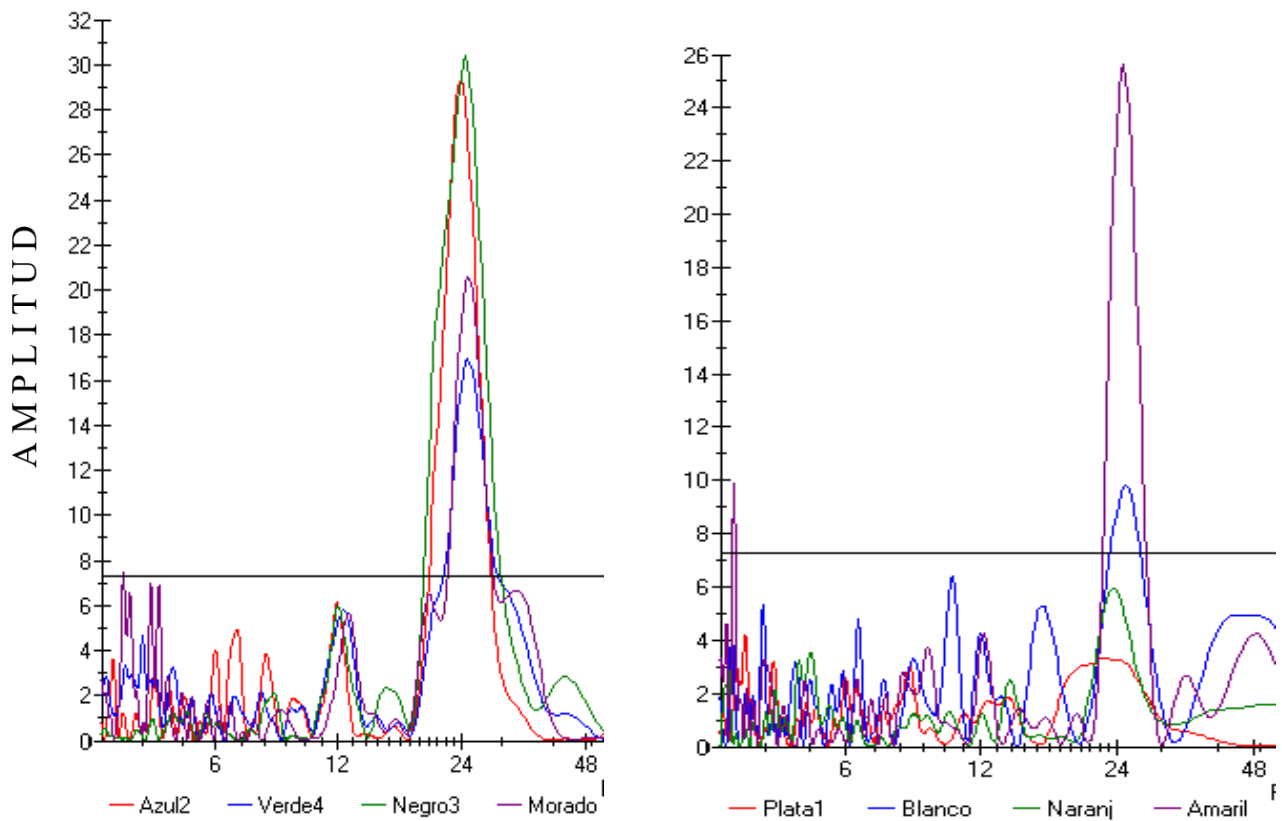


Figura 9. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en fotoperiodo luz/oscuridad 12/12. Se observa un periodo muy cercano a 24 horas para todos los individuos.

En los machos también se observa un ritmo claro pero solamente en dos de ellos es significativo a  $p = 0.05$  (Cuadro 3). Los machos se mueven claramente menos que las hembras mostrando un promedio de actividad alpha total de 1.593 h, mientras que el de rho es de 22.403 h (Cuadro 3). Los actogramas muestran una sincronización en todos los individuos con la fase nocturna del ciclo, con inicio de actividad al apagado de la luz (Figura 7) amarillo muestra una anticipación al apagado de 5 h en el primer día y se recorre hasta 2h en el quinto día. En el periodograma se despliega un solo pico significativo para blanco y amarillo que presentan una gran amplitud, mostrando un ritmo muy cercano a 24 h (Figura 8); mientras que naranja y plata se encuentran por debajo del rango, aun cuando si se manifiesta un ritmo cercano a 24 h. Plata es el único individuo que no presenta actividad estable.

## 6.2 Efecto de oscuridad constante (O/O) sobre el ritmo de actividad locomotriz

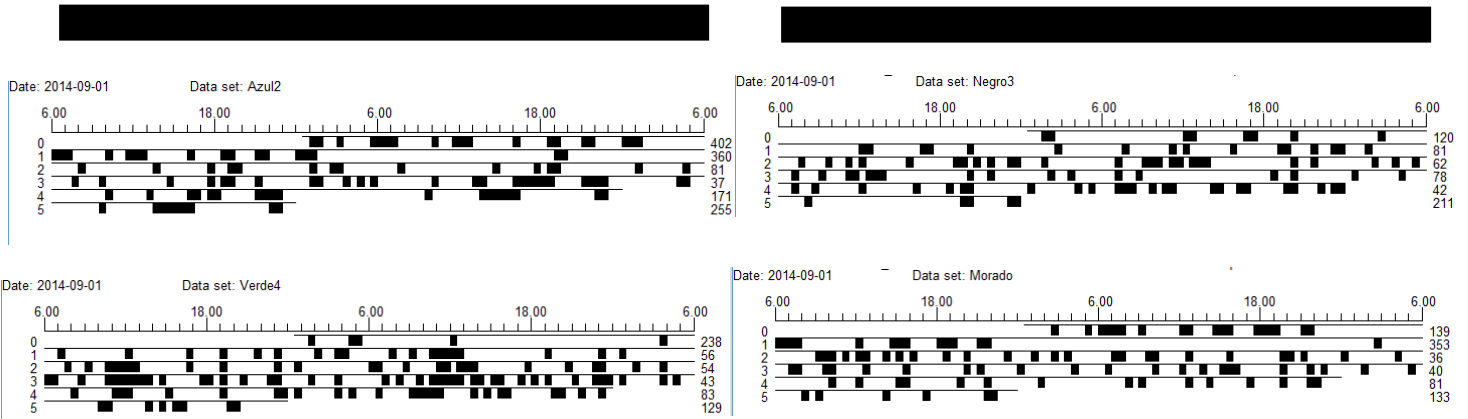
En hembras en periodo de oscuridad constante no se observa ningún ritmo con periodo a 24 horas pero azul muestra dos ritmos ultradianos y negro uno (Cuadro 4). Se observa menor actividad en comparación con L/O, la duración promedio de alpha y rho se muestra en el cuadro 4. La curva promedio de actividad muestra un alpha promedio total de 1.638 h, mientras que el de rho es de 22.361 h. Los actogramas (Figura 9) despliegan actividad durante las 24 horas sin ningún patrón definido. En el periodograma (Figura 10) se observa la ausencia de un ritmo para dos organismos y en los otros dos se muestran dos periodos ultradianos para azul de 5.81 h y 6.02 h y uno para negro de 4.9 h.

Cuadro 4. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de oscuridad constante. \* = Periodo significativo a  $p = 0.05$ .

<b>Hembras O/O</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Azul</b>	<b>Verde</b>	<b>Negro</b>	<b>Morado</b>
Periodo $\tau$ (horas)	6.2078* 5.8116*	3.9586	4.9026*	36.07
Alpha	2.4956	1.077	1.246	1.736
Rho	21.5043	22.9228	22.7539	22.2639
<b>Machos O/O</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Plata</b>	<b>Blanco</b>	<b>Naranja</b>	<b>Amarillo</b>
Periodo $\tau$ (horas)	20.7826*	25.4933*	3.6628*	3.7054*
Alpha	5.656	7.1517	8.3678	6.3496
Rho	18.344	16.8482	15.6321	17.6503



## Hembras



## Machos

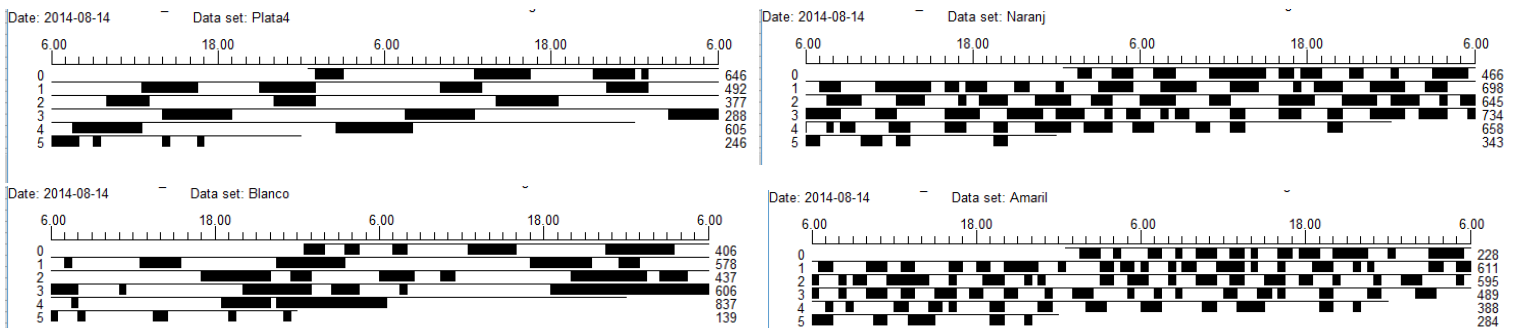


Figura 10. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones de O/O. En hembras se observa actividad durante las 24 horas sin ningún patrón definido para los cuatro organismos. En machos se observa a naranja y amarillo con mucha actividad dispersa durante las 24 horas, plata igualmente lo presenta pero con bloques de actividad más definidos y blanco presenta actividad principalmente durante el horario nocturno.

En los machos en oscuridad constante se observa un periodo cercano a 24 h en dos organismos, plata y blanco; y, ultradiano en todos con una  $p = 0.05$  (Cuadro 4). Se observa un aumento en la actividad diaria comparado a L/O, se muestra la duración diaria promedio de  $\alpha$  y  $\rho$  en el cuadro 4. La curva promedio de actividad muestra un  $\alpha$  promedio total de 6.8813 h, mientras que el de  $\rho$  es de 17.1186 h. En los actogramas (Figura 9) se observa que dos organismos, naranja y amarillo, presentan mucha actividad dispersa durante las 24 horas, plata lo presenta pero con bloques de actividad más definidos y blanco la restringe al horario nocturno sin ningún patrón. En el periodograma (Figura 10) se observa una alteración del ritmo al mostrar ritmos que no existían en L/O; plata presenta cinco ritmos ultradianos: 16.6, 11.0, 9.7, 12.5 y 8.7 h; blanco presenta dos de 14.0 y 9.5 h, naranja muestra cuatro, siendo el de 3.6 h el de mayor amplitud y amarillo solo uno de 3.7 h.

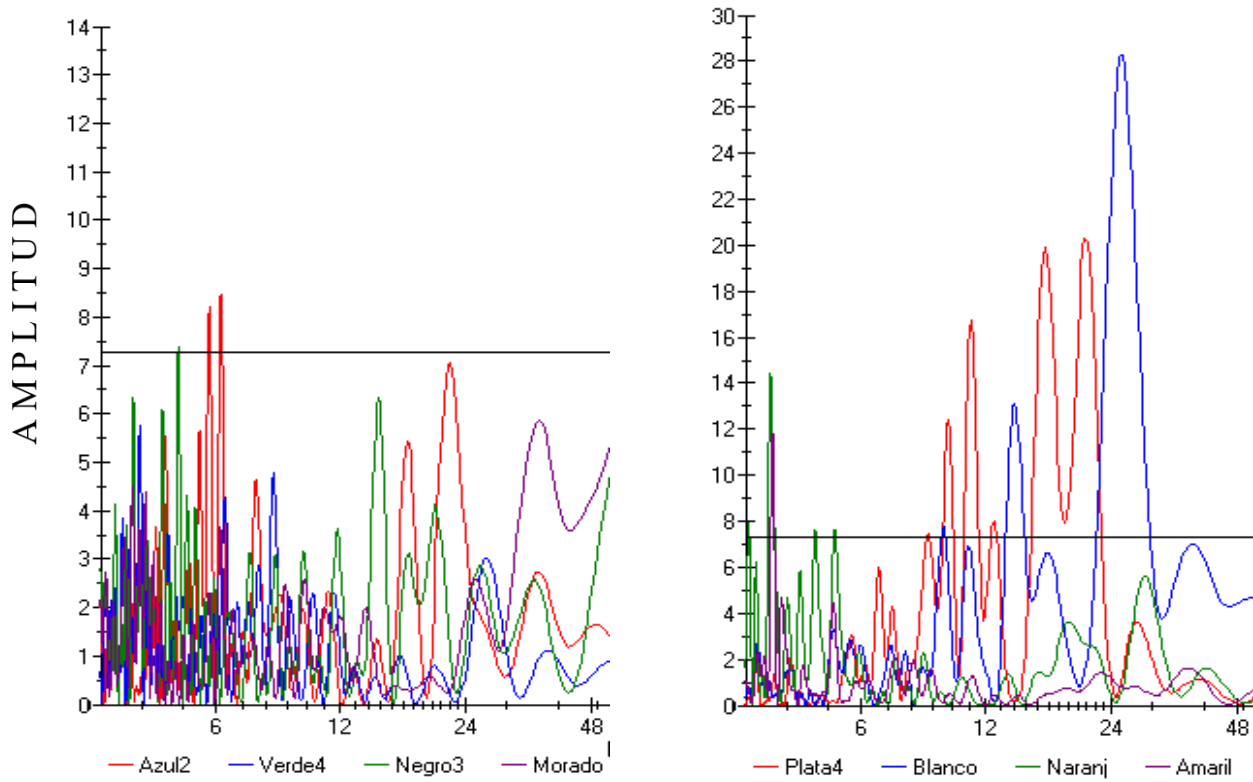


Figura 11. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en condiciones de oscuridad/oscuridad. Se observa ritmo significativo para azul cada 5 y 6 horas con baja amplitud. En machos, plata muestra cuatro picos por periodos de 20.7, 16.6, 11.0 y 9.7 h; naranja exhibe cuatro picos de 3.6, 3.2, 4.6 y 5.2 h; blanco presenta tres, 25.4, 14.0 y 9.5 h y amarillo solo manifiesta uno de 3.7 h. Esto indica una alteración del ritmo tanto para hembras como para machos.

### 6.3 Efecto de luz constante (L/L) sobre el ritmo de actividad locomotriz

Dos de los organismos hembras, verde y negro mostraron un periodo circadiano en condiciones de luz constante; morado muestra uno ultradiano y azul no presenta ningún ritmo (Cuadro 5). En el periodograma (Figura 11) se observa que verde presenta un ritmo circadiano con periodo de 21.9 h y uno infradiano de 31.3 h, negro uno circadiano de 20.3 h y uno infradiano de 30.8 h y morado uno ultradiano de 16.48 h y en azul existe actividad de muy baja amplitud sin ningún ritmo significativo. La curva promedio de actividad muestra un  $\alpha$  promedio total de 2.1678 h, mientras que el de  $\rho$  es de 21.8321 h. Se observa una disminución de actividad comparando con L/O y O/O en todos los organismos menos en negro. La duración promedio de  $\alpha$  y  $\rho$  se observa en el cuadro 5. En los actogramas se observa actividad dispersa durante las 24 horas para los cuatro organismos (Figura 12).

Cuadro 5. Periodos y duración promedio diaria en horas de alpha y rho para hembras y machos bajo ciclo de luz constante. \* = Periodo significativo a p=0.05.

<b>Hembras L/L</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Azul</b>	<b>Verde</b>	<b>Negro</b>	<b>Morado</b>
Periodo $\tau$ (horas)	-	21.977*	20.3404*	16.48*
Alpha	0.4694	1.0679	6.3267	0.8073
Rho	23.5305	22.932	17.6732	23.1926
<b>Machos L/L</b>				
<b>Individuo/ actividad</b>	<b>Plata</b>	<b>Blanco</b>	<b>Naranja</b>	<b>Amarillo</b>
Periodo $\tau$ (horas)	25.4933*	24.2025*	24.8312*	4.9792*
Alpha	14.0939	5.1418	5.6746	5.6751
Rho	9.90605	18.8581	18.3253	18.3248

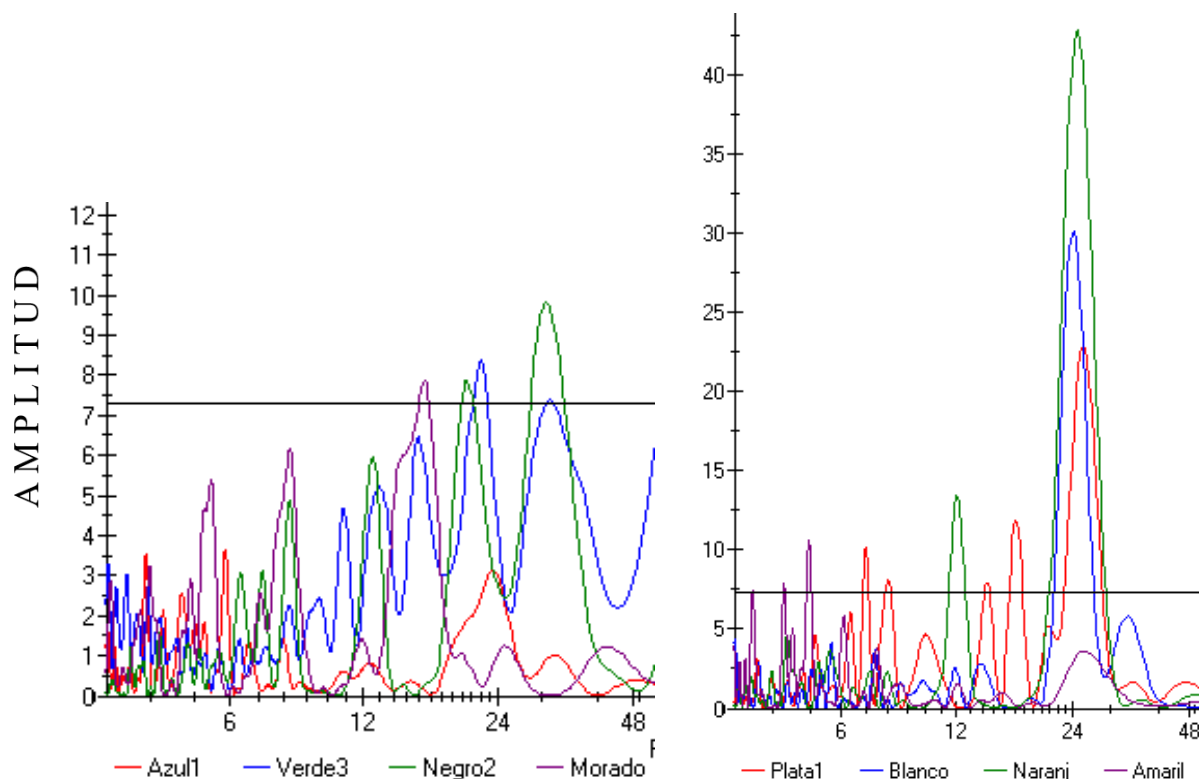
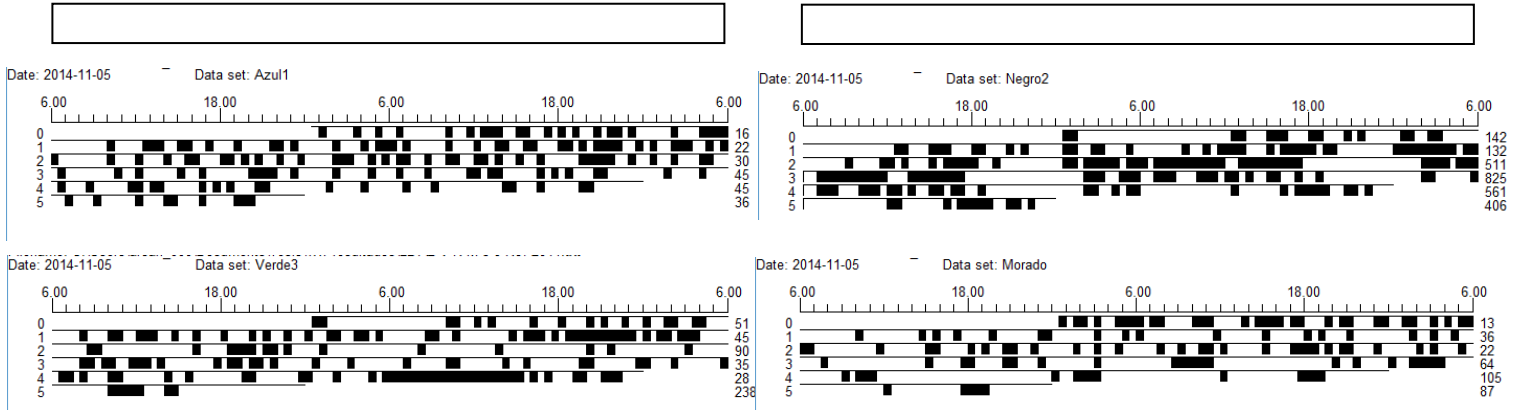


Figura 12. Periodogramas de organismos hembras (izquierda) y machos (derecha) en periodo L/L. En hembras, negro y verde presentan un ritmo de 20.34 h y 21.97 h respectivamente. Morado muestra un pico a 16.48 h y azul no tiene ningún ritmo significativo. En machos se observan periodos circadianos con gran amplitud para tres organismos: blanco de 24.2 h, naranja de 24.8 h. y plata de 25.49 h, además este último presenta 4 picos significativos demostrando una alteración del ritmo y amarillo presenta tres siendo el más significativo de 4.9 h.

## Hembras



## Machos

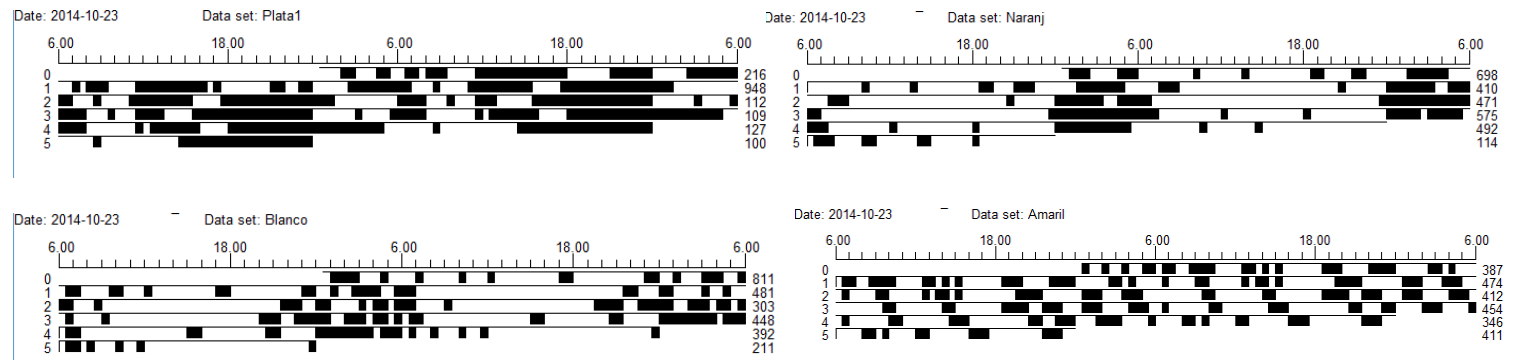


Figura 13. Actogramas de doble gráfica para cuatro hembras (azul, verde, negro, morado) y cuatro machos (plata, blanco, naranja, amarillo) en condiciones luz/luz. Se observa actividad dispersa durante las 24 h para los cuatro organismos hembras. En los machos se puede apreciar que amarillo presenta arritmia mientras que naranja y blanco muestran una sincronización con la noche subjetiva llevando a cabo la mayor parte de su actividad después de las 24:00 hasta poco más de iniciado el día subjetivo, plata se muestra activo la mayor parte de las 24 h, con un  $\alpha$  promedio de 14.039 h.

En los machos en periodo de luz constante, se observa un ritmo con periodo circadiano y gran amplitud para tres organismos: blanco de 24.2 h, naranja de 24.8 h., plata de 25.49 h, y amarillo es el único que solo presenta ritmos ultradianos (Cuadro 5) con una  $p = 0.05$ . En el periodograma (Figura 11) se observa que naranja presenta un ritmo ultradiano de 12.02 h, plata muestra cuatro de 17.07, 6.97, 8.0 y 14.37 h y amarillo presenta tres de 4.97, 4.28 y 3.55 h. Existe un aumento en  $\alpha$  comparando con L/O en todos los organismos; y, comparando con O/O una disminución en todos excepto en plata. En el cuadro 5 se observa la duración promedio diaria de  $\alpha$  y  $\rho$  para cada individuo. La curva promedio de actividad de los cuatro organismos muestra un  $\alpha$  promedio total de 7.6463 h, mientras

que el de rho es de 16.3536 h. En los actogramas se aprecia que naranja y blanco muestran una sincronización con la noche subjetiva, amarillo manifiesta arritmia mientras que plata se muestra activo la mayor parte de las 24 horas (Figura 12).

#### 6.4 Comparación entre hembras y machos

Se presentó un ritmo con periodo circadiano en el 54.16% de los experimentos (Figura 13). En luz/oscuridad los cuatro organismos hembras y dos machos presentaron ritmos con periodos desde 23.9 a 25.1 horas con actividad nocturna. En oscuridad/oscuridad dos machos mantuvieron el periodo circadiano, uno con actividad nocturna y dos mostraron un ritmo ultradiano, de la misma manera, dos hembras mostraron un periodo ultradiano. Bajo condiciones de luz/luz, dos hembras presentan un ritmo circadiano y dos uno infradiano y tres machos presentaron un ritmo circadiano y uno presentó un ritmo ultradiano. El resumen y comparación de individuos que presentaron ritmo se puede observar en el cuadro 6 ( $p = 0.05$ ).

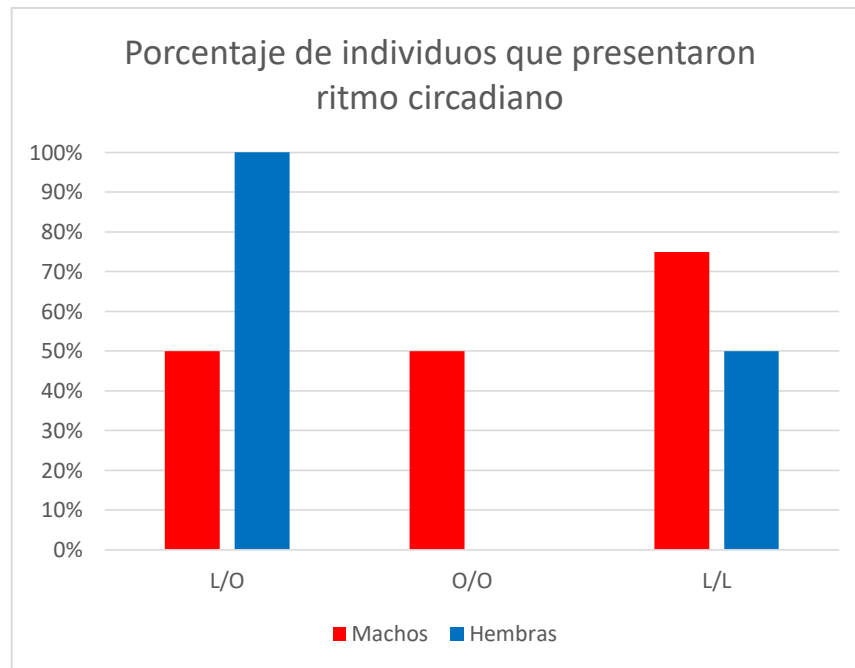


Figura 14. Porcentaje de machos y hembras que presentaron un ritmo circadiano en las diferentes condiciones de iluminación. L/O = 12:12 horas luz/oscuridad; O/O = oscuridad constante. L/L = luz constante.

Cuadro 6. Parámetros exhibidos en las diferentes condiciones experimentales de los ocho individuos: presencia de un ritmo y periodo en horas. \* = Periodo significativo a  $p = 0.05$ .

Grupo	L/O	O/O	L/L
Hembras	Azul: 23.9 h * Verde: 24.8312 h * Negro: 24.5128 h * Morado: 24.8312 h *	Azul: 6.2078 h* 5.8116 h* Verde: 3.9586 h Negro: 4.9026 h * Morado: 36.07 h	Azul: Sin ritmo Verde: 21.977 h* 31.3443 h* Negro: 20.3404 h* 30.8387 h* Morado: 16.48 h*
Machos	Plata: 24.2025 h  Blanco: 25.1579 h*  Naranja: 23.6049 h  Amarillo: 24.8312 h*	Plata: 20.7826 h* 16.6262 h* 11.0520 h* 9.7551 h* 12.5789 h* 8.7306 h* Blanco: 25.4933 h* 14.058 h* 9.5124 h* Naranja: 3.6628 h* 3.2407 h* 4.6863 h* 5.2098 h* Amarillo: 3.7054 h*	Plata: 25.4933 h* 17.0714 h* 6.9781 h* 8.0 h* 14.3759 h*  Blanco: 24.2025 h*  Naranja: 24.8312 h* 12.0252 h* Amarillo: 4.9792 h* 4.2870 h* 3.5539 h*

La duración de alpha, rho y el desplazamiento en metros se resume de la siguiente manera: a) en condiciones de luz/oscuridad los machos presentaron en promedio desde 0.7 a 3.0 h de actividad diaria con un desplazamiento promedio diario desde 14 hasta 44 m, mientras que las hembras de 2.1 a 5.2 h y un desplazamiento desde 47 hasta 69 m, indicando un mayor movimiento por parte de las hembras; b) en condiciones de oscuridad/oscuridad hubo un aumento de actividad y desplazamiento por parte de los machos que se elevó desde 5.6 hasta 8.3 h diarias y de 74 hasta 86 m en promedio; esto es, dependiendo del individuo, desde el doble hasta ocho veces lo que presentaron en L/O. Para las hembras hubo una disminución en todos los organismos desde la mitad hasta cinco veces lo que tenían en L/O, presentando de 1.0 a 2.49 h diarias y un desplazamiento de 15 a 32 m en promedio; c) en luz/luz todos los machos mostraron un aumento en comparación con L/O y una disminución con O/O, tres de éstos manifestaron un alpha muy similar de 5.1 a 5.6 horas en promedio con desplazamiento de 65 a 76 m promedio diario y el macho restante (plata) presentó una actividad promedio de 14.09 h con un desplazamiento de 93m. De la misma manera, en tres de las hembras se dio una disminución de la actividad en comparación con L/O y O/O desde 0.4 a 1.0 h y de 14 a 16 m y solo una (negro) exhibió un aumento a 6.32 h con un desplazamiento promedio de 53 m. Los datos del desplazamiento se pueden observar en la figura 14.

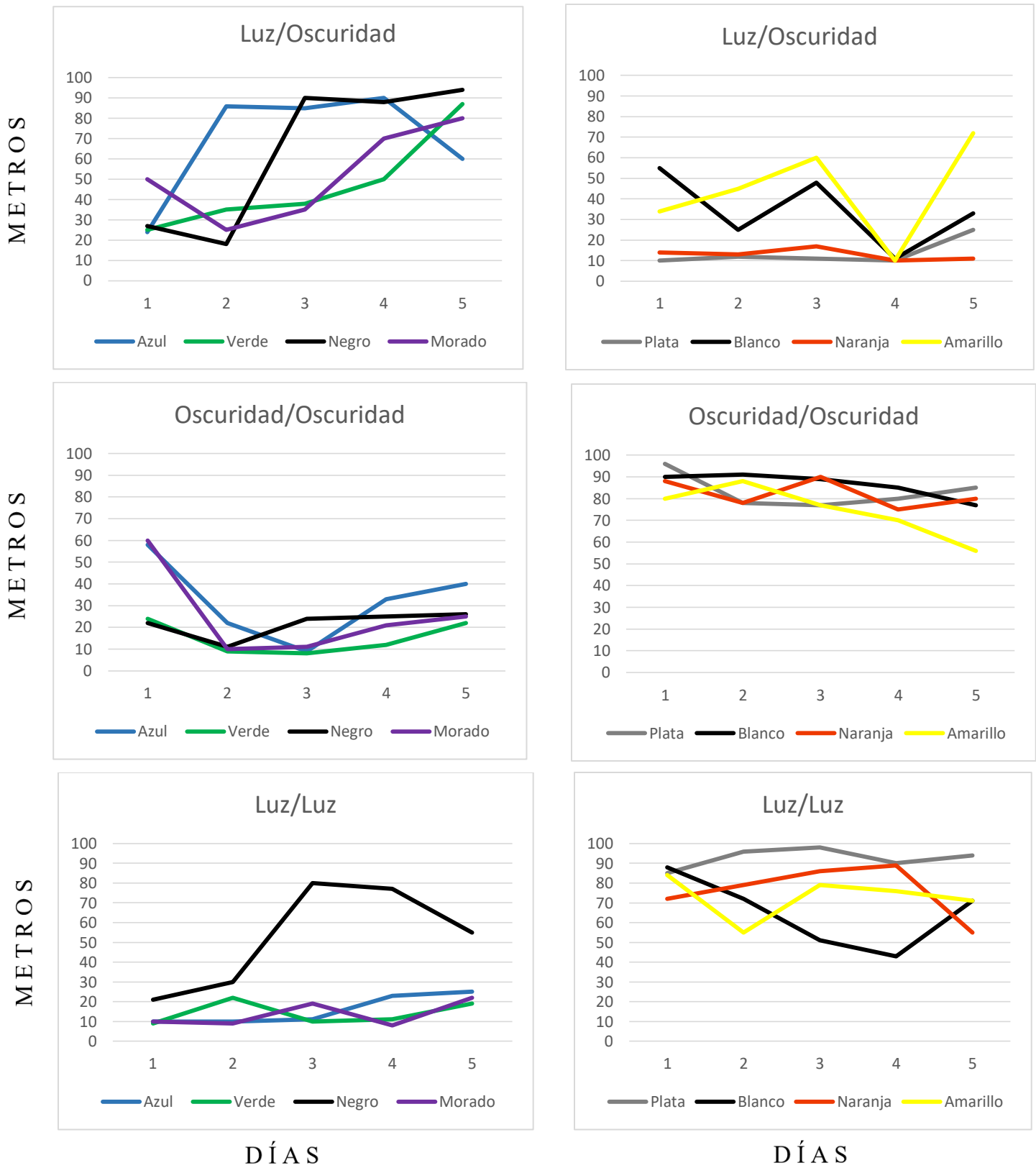


Figura 15. Desplazamiento promedio diario en metros observado por hembras (izquierda) y machos (derecha) en condiciones de luz/oscuridad, oscuridad/oscuridad y luz/luz. Los días se muestran en el eje de las abscisas y el desplazamiento diario promedio en metros en el eje de las ordenadas.

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Presencia de un ritmo y sincronización a la luz

Los resultados de este estudio demuestran, como se había hipotetizado, un ritmo de actividad locomotriz con un periodo muy cercano a 24 h en seis de ocho organismos de *Crotalus molossus* al mantenerlos en condiciones de laboratorio con periodos de luz y oscuridad de 12:12 h. En los dos machos restantes, también se registró un periodo cercano a 24 h el cual no es estadísticamente significativo pero es el de mayor amplitud de entre todos en su registro individual. Resultados semejantes obtuvo Griffiths (1984), el cual realizó un estudio con la boa de arena *Eryx conicus* y todas las serpientes se sincronizaron a periodos de luz/oscuridad 12:12 y mostraron actividad nocturna, común para esta especie.

Al todos mostrar un ritmo y sincronizarse cinco individuos al apagado de las luces, se confirma que con una temperatura constante de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  la luz es un sincronizador para ritmos de actividad en *C. molossus*. De la misma manera se puede corroborar que prefieren el horario nocturno ya que se presentó actividad nocturna en siete de los ocho organismos que mostraron ritmo en luz/oscuridad, como lo que reportan Klauber (1949), Armstrong y Murphy (1979) y Balderas Valdivia *et al.* (2009) para esta especie en el campo.

En condiciones de oscuridad constante, dos machos y ninguna hembra presentaron ritmo circadiano. Al igual que lo que encontró Griffiths (1984) en su estudio con *Eryx conicus*, no hubo evidencia de un ritmo persistente bajo oscuridad constante en ningún animal. Contrario a esto, Oishi *et al.* (2004) en un estudio con las lagartijas *Takydromus tachydromoides* y *Takydromus smaragdinus* en Japón, encontraron que estas despliegan una actividad diurna bajo ciclos de luz/oscuridad y el ritmo se mantuvo en libre curso bajo condiciones de oscuridad/oscuridad en todos los organismos. En el presente estudio se observó una alteración del ritmo circadiano probablemente relacionado al dimorfismo sexual ya que solamente dos machos presentaron ritmo circadiano, y todos los ejemplares presentaron ritmos ultradianos no observados en periodo luz/oscuridad. Los resultados indican que la luz es necesaria para que las serpientes generen su ritmo proponiendo que el ritmo en hembras es diario y no circadiano ya que para ser considerado circadiano debe mantenerse en ausencia del sincronizador (Pittendrigh y Minis, 1964). Por ejemplo, Ellis *et al.* (2007) encontraron que 13 de 17 lagartijas *Tiliqua rugosa* mantuvieron el ritmo circadiano de L/O en O/O. Para corroborar si en efecto los ritmos circadianos son de origen endógeno es importante realizar estudios de mayor duración y aumentar el número de organismos para comprobar que el ritmo se mantenga en ausencia del sincronizador (Oishi *et al.*, 2004).



En condiciones de luz constante dos hembras muestran un ritmo de 24 h con muy baja amplitud y también un ritmo infradiano. En su actograma se lee actividad dispersa durante todo el día lo que indica que no existe un periodo definido de actividad (Underwood, 1973). En las mismas condiciones, tres machos presentaron un ritmo en libre curso con periodo de actividad cercano a 24 h que indica que pudiera existir un ritmo circadiano de origen endógeno, al mantenerse en la mayoría de los organismos (Oishi *et al.* 2004). En un estudio con los anfisbénidos *Amphisbaena manni*, *A. gonavensis* y las serpientes *Typhlops biminensis* y *T. pusilla*, Thomas y Thomas (1978) encontraron en todos los organismos evidencia de un fuerte ritmo circadiano endógeno al mantenerlos en luz constante, excepto en *A. manni*. Estos resultados contrastan con el registro de Griffiths (1984) en *Eryx conicus*, en el cual solo una de cinco serpientes mostró persistencia del ritmo en luz constante. Oishi *et al.* (2004) encontraron que *T. tachydromoides* redujo su periodo en oscilación espontánea bajo condiciones de luz constante mientras que *T. smaragdinus* no modificó su periodo. La actividad realizada se lleva a cabo en la noche subjetiva (después de las 18:00 h) en tres organismos machos y el restante muestra actividad durante las 24 h. Es posible que el mantener el ritmo con luz constante está asociado a una estacionalidad reproductiva debido a que la época de cópula se lleva a cabo en los meses de días largos en el año y son los machos los que buscan a las hembras (Armstrong y Murphy, 1979; Schuett, 1992; Greene *et al.*, 2002; Balderas Valdivia *et al.*, 2009).

Se hace evidente con los estudios analizados que la luz continua afecta de manera distinta a organismos de diferentes especies así como de la misma especie. En este estudio se encontró que dentro de la misma especie modifica a machos y a hembras de manera desigual, ya que en machos se genera un ritmo muy marcado y con gran amplitud y en las hembras se presenta un ritmo circadiano de muy baja amplitud y además nuevos ritmos tanto ultradianos como infradianos.

## **7.2 Periodos en las distintas condiciones**

Existió poca variación en el periodo del ritmo endógeno de 24 h entre los organismos en las distintas condiciones, pero se generaron diversos ritmos que no se encontraban en condiciones de L/O:

- a) En oscuridad/oscuridad tres hembras y todos los machos presentaron un ritmo ultradiano
- b) En luz/luz dos hembras generan un ritmo infradiano y tres machos ultradiano

De esto se desprende que el ritmo endógeno que presentan los organismos, en efecto, es circadiano y que la luz es un fuerte sincronizador a temperatura constante. Griffiths (1984) señaló que un ritmo biológico puede operar como: a) un robusto ritmo endógeno que es sincronizado y solo levemente reforzado por el ciclo sincronizador, b) un ritmo endógeno débil que es sincronizado y fuertemente reforzado por el ciclo sincronizador o c) un simple ritmo exógeno estímulo-respuesta. Los

resultados encontrados en *C. molossus* son fácilmente explicados por b), ya que existe un componente endógeno que mantiene el periodo del ritmo y es fuertemente sincronizado por la luz. En dos organismos en oscuridad/oscuridad, el periodo se mantiene a pesar de que no hay un sincronizador, al igual que tres machos y dos hembras en luz/luz.

En este organismo la regla de Aschoff no es aplicable y de hacerlo las hembras serían organismos nocturnos ya que su periodo se alarga al aumentar la intensidad de la luz. Por el contrario, en una hembra y dos machos el periodo se acorta sugiriendo que la especie es diurna (Aschoff, 1981).

### 7.3 Análisis alpha y rho

En L/O se presentó actividad nocturna en la mayoría de las serpientes. Durante el día los movimientos no fueron muy frecuentes y el reposo o acecho fue la acción predominante. El mismo comportamiento se ha observado en las especies *Bothrops jararaca*, *B. atrox* y otras especies de *Crotalus* (Sazima, 1988; Beck, 1995; Oliveira y Martins, 2001). Se presume que la actividad nocturna en estos individuos de *Crotalus molossus* se debe a que se trata de una población del altiplano que se somete a altas temperaturas diurnas por lo tanto restringe su actividad al horario nocturno. Los resultados en este experimento a temperatura constante, demuestran que las serpientes prefirieron el horario nocturno inclusive sin tener un gradiente térmico del cual escoger. Cloudsey Thompson (1961) menciona una hipótesis en la que muchos animales tienden a ser nocturnos para evitar la depredación.

Los resultados obtenidos muestran un mayor desplazamiento por parte de las hembras en L/O. Esto es contrario a lo esperado ya que Hardy y Greene (1999), Greene *et al.*, (2002) y Balderas Valdivia *et al.* (2009) mencionan que los machos en general tienen más movimiento que las hembras. Por ejemplo, el ámbito hogareño para machos adultos es de 300 x 700 m cuando para las hembras no grávidas es de solo 150 x 250 m y 2 m<sup>2</sup> para hembras grávidas (Hardy y Greene, 1999; Balderas Valdivia *et al.* 2009). Aun cuando, no se puede afirmar que son lo mismo movimientos en ambientes controlados vs. movimientos en ambientes de vida libre, es interesante notar que la distancia que se movieron las serpientes bajo condiciones de L/O en los encierros, fue muy similar a los aproximadamente 43 m por día mencionado por Beck (1995) para *C. molossus* en vida libre.

El movimiento en machos aumentó en O/O y en L/L, pero disminuyó en hembras. Esto nos puede indicar que las diferentes condiciones de iluminación afectan de manera distinta a machos y a hembras generando respuestas diferentes para cada grupo. La distinta amplitud (mayor en machos) en los periodos en libre curso, y la mayor presencia de ritmos ultradianos en machos y de infradianos en hembras confirman estas diferencias entre sexos. Se puede pensar que la oscuridad continua para machos y hembras, y la luz continua para hembras enmascara al ritmo endógeno. El enmascaramiento

sucede con cualquier proceso que distorsione la salida original del reloj interno, ya sea que provenga del interior o del exterior del cuerpo (Minors & Waterhouse 1989, p. 30).

Mientras la mayoría de biólogos asumen que los relojes circadianos generan patrones de actividad, también es bien conocido que los estímulos ambientales pueden enmascarar los ritmos endógenos al suprimir o aumentar la actividad (Underwood, 1992). Así, en machos la actividad aumenta, mientras en hembras disminuye. De la misma manera se puede asumir que el aumento en la actividad en machos en L/L se deba al estrés producido por la luz constante y tratan de buscar refugio (recuerde que las serpientes carecen de párpados) y al no encontrarlo después de un tiempo se cansan y reposan, retomando la actividad de buscar refugio al poco tiempo. Se desconoce porque este efecto se restringe mas bien a los machos.

Al igual que la condición luz/luz activa el periodo de 24 h presumiblemente asociado a una extensión del día durante la época reproductiva (ver arriba), el aumento de actividad en luz/luz en machos también puede estar asociado a la época de cópula, que sucede en los días largos. Durante la cópula los machos buscan a las hembras desplazándose varios cientos de kilómetros siguiendo un rastro en busca de una hembra (Hardy y Greene, 1999). Balderas Valdivia *et al.* (2009) por medio de radiotelemetría, encontraron que en la temporada seca, de marzo a mayo donde los días son mas largos, las serpientes recorren mayores distancias.

#### **7.4 ¿Es la luz un factor determinante para la activación de ritmos y movimientos?**

Comparando los resultados obtenidos con a la bibliografía consultada podemos confirmar que la luz es un factor determinante para sincronizar un ritmo, ya que se presentó un ritmo circadiano con gran amplitud en condición L/O. Bajo las demás condiciones fue de menor amplitud pero aun así se observó un ritmo y solo en hembras no se presentó en O/O. De la misma forma, la luz es un factor decisivo para el desarrollo de actividad locomotriz en *Crotalus molossus* ya que los organismos aumentaron o disminuyeron su actividad dependiendo del género y de las condiciones lumínicas a temperatura constante.

Para separar los efectos de la luz y de la temperatura se realizó una comparación bibliográfica de la actividad locomotriz entre poblaciones del sur de Estados Unidos y norte, centro y sur de México (Armstrong y Murphy, 1979; Beck, 1995; Hardy y Greene 1999; Greene *et al.*, 2002; Balderas Valdivia *et al.*, 2009 y observaciones personales). De ello se concluye que a lo largo de su distribución, las serpientes de cascabel estivan o hibernan de diciembre a febrero (invierno), registrando muy poca actividad. Por su parte durante el verano, las poblaciones del sur de EEUU y norte de México son nocturnas debido a las muy altas temperaturas durante el día y las poblaciones del centro de México

son principalmente diurnas debido a que el verano es relativamente frío. Así, las poblaciones del sur del país se pueden encontrar tanto en el día como en la noche y durante todo el año, probablemente porque el invierno es relativamente cálido y las temperaturas diarias promedio oscilan muy poco entre las estaciones (Tozetti y Martins, 2012). Este patrón se puede fundamentar con los estudios de Beck (1995) en las Montañas Tucson en el Desierto Sonorense en los cuales mencionan que durante los meses fríos *C. atrox*, *C. molossus* y *C. tigris* fueron más activos al mediodía, mientras que en meses menos fríos fueron predominantemente nocturnos o crepusculares. De la misma forma se encontraron 12 ejemplares de *Crotalus estebanensis* (antes *C. molossus*) con actividad nocturna en la isla San Esteban de las 1900 h hasta las 2400 h (observaciones personales). Durante el día se observaron individuos de esta especie en estado de reposo en cuevas o madrigueras bajo el suelo. En esta isla se registran temperaturas en el suelo de hasta 67 °C (Salinas, 2016). De la misma forma se encuentran las observaciones de Heckrotte (1962) en las cuales menciona cambios en los patrones de actividad en *Thamnophis radix radix*, ya que esta especie norteamericana se reporta como inactiva en invierno, diurnamente activa en primavera y otoño y nocturna en verano.

Aparentemente la temperatura es más importante que la luz para estimular la actividad natural en los crótalos. En un estudio realizado durante un año con *Crotalus durissus* en una zona de clima templado con invierno seco en Brasil (parecido al centro de México), Tozetti y Martins (2012) reportaron que el número de serpientes que se asolean fue bajo, ya que las temperaturas diarias promedio se mantienen estables durante todo el año y son suficientemente altas para activar el metabolismo. Se esperaría que para una serpiente tomar el sol es fundamental para controlar la actividad metabólica (Huey *et al.*, 1989).

A parte de la temperatura otros factores que tendrían un mayor peso sobre la actividad locomotriz sería la humedad relativa (Oliveira y Martins, 2001), la caza (Balderas Valdivia *et al.* 2009), la búsqueda de refugio (Hardy y Greene, 1999), agua etc. En el mismo tenor durante la presente tesis se registró a las serpientes bebiendo agua en promedio una vez cada cinco días, lo que sugiere que para esta especie no existe un estrés hídrico tan marcado (Dupoué *et al.* 2014).

En cuestiones de conducta asociada al movimiento se puede inferir que los movimientos probablemente aumentan el riesgo de depredación y exposición a condiciones ambientales adversas (Bonnet *et al.*, 1999). Desde este punto de vista, la selección de un sitio de forrajeo que también proporcione los requisitos de termorregulación diurna es esencial, reduciendo la necesidad de moverse. Corroborando esto, Hardy y Greene (1999) mencionaron que se han encontrado individuos de *C. molossus* exponiendo al sol sólo una parte del cuerpo, en la cual se encuentra la comida ingerida.

## 7.5 Consideraciones finales

Como se mencionó anteriormente, los estudios sobre ritmicidad circadiana se han enfocado principalmente en las lagartijas, tanto en estudios sobre fotoperiodicidad como de termorregulación, parietectomía, pinealectomización enucleación, melatonina en sangre, etc. (Underwood y Menaker, 1970, 1976; Underwood, 1973, 1985; Foà *et al.*, 1993; Menaker y Wisner, 1983; Innocenti *et al.*, 1994, 1996; Tosini y Menaker, 1995, 1998; Tosini *et al.*, 2001). Inclusive existen estudios en testudines como el de Cloudsley-Thompson (1971) en el cual expone que la tortuga tropical *Testudo sulcata* tiene un ritmo circadiano bien marcado e imperturbable. Dos estudios en *Trachemys scripta elegans* demuestran la existencia de un ritmo circadiano de actividad locomotriz (Gopar-Canales *et al.*, 2010), así como publicaciones sobre el efecto de inyecciones de melatonina en *Terrapene carolina* (Erskine y Hutchison, 1981).

Muy poco se ha realizado en serpientes (Nelson *et al.*, 1987; Crews *et al.* 1988; Haldar y Pandey, 1989; Mendonca *et al.*, 1995, 1996). El compendio de Tosini (1997) demuestra que el complejo pineal en la clase Reptilia presenta una gran variabilidad, tanto a nivel de estructura como neuroendocrino. De acuerdo a esto se puede suponer que lo que es válido para las lagartijas, no lo será para las serpientes, aun cuando pertenecen a un mismo linaje. Se requieren realizar más estudios sobre el tema en diversos géneros de serpientes ya sea para refutar o confirmar lo ya teorizado.

Para confirmar que en efecto sean ritmos circadianos endógenos y que la luz es un fuerte sincronizador es relevante el realizar experimentos con fotoperiodos de días largos y días cortos así como fotoperiodo esqueleto (Gopar-Canales *et al.*, 2010). De la misma forma, al ser la temperatura un estímulo importante para la realización de actividad en *C. molossus*; resulta importante producir una variación de la temperatura manejando termoperiodos con diferentes fotoperiodos (Firth y Keenaway, 1989; Firth *et al.* 1999)

Este estudio abre campo para promover la investigación en ritmos de serpientes; por ejemplo, bajo diferentes fotoperiodos y termoperiodos, luz infrarroja, fotoperiodo esqueleto, melatonina en sangre, enucleación, pinealectomía, etc. Así también, *Crotalus molossus* sirve como especie modelo para el entendimiento de los ritmos en vipéridos tropicales, al no existir hasta ahora antecedentes directos sobre estudios experimentales en laboratorio sobre ritmos en este tipo de serpientes. El único estudio experimental en serpientes reportado hasta ahora es el la boa de arena *Erix conicus*, de Asia, lejanamente relacionada.

## 8. CONCLUSIONES

Al comparar los resultados en este estudio con la bibliografía, se demuestra que *Crotalus molossus* presenta un robusto ritmo circadiano sincronizado por la luz en condiciones de iluminación L/O 12:12 y luz constante. En libre curso el ritmo se mantiene con un periodo cercano a 24 horas en la mayoría de los organismos lo que nos hace suponer que es endógeno y fuertemente sincronizado por la luz. Al mismo tiempo, en libre curso se observan nuevos ritmos tanto ultradianos como infradianos que no existían en L/O, lo que sugiere que se alteran los ritmos de actividad generando patrones de comportamiento desiguales para machos y para hembras. De la misma manera se distinguen patrones de comportamiento definidos por el sexo en relación a las diferentes amplitudes en los periodos observados y ausencia de ritmo en hembras en O/O, así como la presencia de un ritmo en los machos en condiciones de luz continua, esto puede deberse a que los machos son los que buscan a las hembras durante la época de cópula que se lleva a cabo durante los días largos en el año.

El análisis de alpha y rho demuestra que *Crotalus molossus* es un organismo de poca actividad en L/O, lo que es útil para estudios de una larga duración o con fotoperiodos mayores a 24 horas. Así también, la distancia recorrida en L/O es similar a lo que se reporta en la bibliografía y el aumento de actividad locomotriz en machos y la disminución en hembras en las distintas condiciones experimentales nos indica que la luz y oscuridad afectan de manera distinta a machos y a hembras y son un factor decisivo para el desarrollo de actividad locomotriz en *Crotalus molossus*.

Un reloj biológico tiene significancia adaptativa cuando le ayuda al organismo a saber el momento adecuado para realizar actividad así, desde un punto de vista ecológico, la víbora de cascabel de cola negra, *Crotalus molossus* demuestra ser un organismo tanto diurno como nocturno o crepuscular, a causa de varios factores, como la edad del individuo, dieta, búsqueda de refugio o conducta anti predatoria; la luz sincroniza al organismo y la temperatura provee la señal de mejor momento para moverse, debido a su condición poiquiloterma. Dependiendo de la variabilidad de estos factores puede modificar su actividad locomotriz. Por lo tanto, resulta fundamental realizar estudios con organismos juveniles para descartar o confirmar preferencias de tiempo de actividad así como los resultados observados en este estudio.

Está bien establecido que la actividad de *C. molossus* está directamente relacionada con la latitud y el tipo de clima en el que habitan, no obstante, las serpientes utilizadas en este estudio son animales nacidos en cautiverio y acostumbrados a ciclos de luz/oscuridad 12:12 desde su nacimiento, a pesar de que los ritmos circadianos están determinados genéticamente es importante realizar estos estudios con individuos silvestres y sería valioso el examinar el comportamiento de organismos de

diferentes áreas de distribución bajo las mismas condiciones experimentales para observar si muestran los mismos patrones de comportamiento.

Para finalizar, la serpiente de cascabel de cola negra, *Crotalus molossus*, puede ser considerada como un buen modelo para el estudio de los ritmos circadianos en serpientes dado a su fácil adaptación al cautiverio, ligeramente dócil conducta y económica manutención, pero es un organismo que requiere conocimientos especiales para su manipulación.

## 9 REFERENCIAS

- Alvarado-Díaz, J., Suazo-Ortuño, I. (2006). Reptiles venenosos de Michoacán. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. 118 p
- Anderson, F.E., Green, C.B. (2000). Symphony of rhythms in *Xenopus laevis* retina. *Microscience Research Technology* 50:360–372.
- Armstrong, B.L., Murphy, J.B. (1979). The natural history of Mexican rattlesnakes. University of Kansas of the Museum of Natural History, Special Publications, 5: 1-88.
- Aschoff, J. (1981). Handbook of behavioral neurobiology. Volume 4, Biological Rhythms. Plenum Press, New York.
- Aschoff, J. (1999). Masking and parametric effects of high-frequency light-dark cycles. *Japanese Journal of Physiology*, 49, 11-18.
- Baird, S.F., Girard, C. (1853). Catalogue of North American reptiles in the Museum of the Smithsonian Institution Washington. Part I Serpents. Smithsonian Institution, Washington.
- Bakken, G.S., Krochmal, A.R. (2007). The imaging properties and sensitivity of the facial pits of pitvipers as determined by optical and heat-transfer analysis. *Journal of Experimental Biology*. 210, 2801-2810.
- Balderas-Valdivia, C.J., Barreto-Oble, D., Madrid-Sotelo, C.A. (2009). Contribución a la historia natural de *Crotalus molossus*. En: A. Lot y Z. Cano-Santana (Eds.) Biodiversidad del Pedregal de San Ángel. UNAM, Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y Coordinación de la Investigación Científica, D.F. México. Pp. 363-369.
- Bartell, P., Miranda-Anaya, M., Menaker, M. (2004). Period and phase control in a multioscillatory circadian system (*Iguana iguana*). *Journal of Biological Rhythms* 19:47-57
- Beaupre, S.J. (1996). Field metabolic rate, water flux, and energy budgets of Mottled Rock Rattlesnakes, *Crotalus lepidus*, from two populations. *Copeia* 1996:319–329.
- Beck, D. (1995). Ecology and energetics of three sympatric rattlesnakes species in the Sonoran desert. *Journal of Herpetology*, 29: 211-223.
- Bertolucci, C., Foà, A. (1998). Seasonality and role of the SCN in entrainment of lizard circadian locomotor rhythms to daily melatonin injections. *American Journal of Physiology*. 274 (4): R1004-R1014.
- Bonnet, X., Naulleau, G., Shine, R. (1999). The dangers of leaving home: dispersal and mortality in snakes. *Biological Conservation* 89: 39-50.
- Bünning, E., Stern, K. (1930). Über die tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus*. II. Die Bewegungen bei Thermo-konstanz. *Berichte der Deutsche*



- Botanischen Gesellschaft 48:227-252. En: Daan, Serge, 2010. A history of chronobiological concepts. Pp. 1-36. En Albercht, Urs. (ed.) The circadian clock, Protein reviews Vol. 12. Springer Science.
- Cahill, G. M. (1996). Circadian regulation of melatonin production in cultured zebrafish pineal and retina. *Brain Research* 708:177-181.
- Campbell, J.A., Lamar, W.W. (2004). The venomous reptiles of the western hemisphere, vol. II. Comstock/ Cornell University Press, Ithaca, New York. 870p.
- Campbell, A.L., Naik, R.R., Soward, L., Stone, M.O. (2002). Biological infrared imaging and sensing. *Micron*, 33: 211-225.
- Canseco-Márquez, L., Gutiérrez-Mayén, M.G. (2006). Guía de campo de los anfibios y reptiles del valle de Zapotitlán, Puebla. Sociedad Herpetológica Mexicana, A. C. Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Cardinali, D. P. (1999). Ritmos biológicos. En: Fisiología Humana. Tresguerres, J.A.F. *et al.* (eds.), McGraw-Hill. Interamericana. pp. 1133-1147.
- Castellón-Huerta, B. (2001). Cúmulo de símbolos. La serpiente emplumada. *Arqueología Mexicana* 53:28-35.
- Chiszar, D., Wickman, D., Colton, J. (1986). Sensitivity to thermal stimulation in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*) after bilateral anesthetization of the facial pits. *Behavioral Neural Biology*. 45(1):143-149.
- Cloudsley-Thompson, J. L. (1961). Rhythmic activity in animal physiology and behaviour. Academic Press, London, pp. 236.
- Cloudsley-Thompson, J.L. (1971). The temperature and water relations of reptiles. Mellow Technical Library, Watford, England.
- Cloudsley-Thompson, J. L. (1980). Biological Clocks. Their functions in nature. Weidenfeld and Nicolson. The world naturalist. London, pp. 138.
- Correa-Cano, M., Ochoa-Ochoa, L., Flores-Villela, O., García-Vázquez, U., Canseco-Márquez, L. (2006). *Crotalus molossus* (Víbora cascabel cola negra). Área de distribución potencial, escala: 1:1000000. Museo de Zoología 'Alfonso L. Herrera', Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Proyecto: DS009, Extraído del proyecto DS009: Áreas potenciales de distribución y GAP análisis de la herpetofauna de México. Disponible en línea [http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/crotal\\_mologw.xml? httpcache=yes& xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc\\_html.xsl& indent=no](http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/crotal_mologw.xml? httpcache=yes& xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl& indent=no). Consultado el 10/02/2018

- Crews, D., Hingorani, V., Nelson, R.J. (1988). Role of the pineal gland in the control of annual reproductive behavioral and physiological cycles in the red-sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Journal of Biological Rhythms* 3: 293-302.
- Daan, S. (2010). A history of chronobiological concepts. Pp. 1-36. En Albercht, Urs. (ed.) *The circadian clock*, Protein reviews Vol. 12. Springer Science.
- Davidson, A.J., Poole, A.S., Yamazaki, S., Menaker, M. (2003). Is the foodentrainable circadian oscillator in the digestive system? *Genes Brain Behavior* 2: 32–39.
- Degenhardt, W.G., Painter, C.W., Price, A.H. (1996). *Amphibians and Reptiles of New Mexico*. University of New Mexico Press, Albuquerque.
- Diario Oficial de la Federación 30/diciembre/2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- Dunlap, J. C., Loros J. J. (2005). Analysis of circadian rhythms in *Neurospora*: overview of assays and genetic and molecular biological manipulations. *Methods Enzymology*. 393:3–22. [PubMed: 15817284]
- Dupoué, A., Angelier, F., Lourdais, O., Bonnet, X., Brischoux, F. (2014). Effect of water deprivation on baseline and stress-induced corticosterone levels in the Children's python (*Antaresia childreni*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* Volume 168, Pages 11-16.
- Ebert, J., Westhoff, G. (2006). Behavioural examination of the infrared sensitivity of rattlesnakes (*Crotalus atrox*). *Journal of Comparative Physiology. A* 192, 941-947.
- Ellis, D.J., Firth, B.T., Belan, I. (2007). Circadian rhythms of locomotor activity and temperature selection in sleepy lizards, *Tiliqua rugosa*. *Journal of Comparative Physiology A*. 193:695–701.
- Erskine, D.J., Hutchinson, V.H. (1981). Melatonin and behavioral thermoregulation in the turtle, *Terrapene carolina triunguis*. *Physiology and Behavior* 26: 991-995.
- Firth, B.T., Kennaway, D.J. (1989). Thermoperiod and photoperiod interact to affect the phase of the plasma melatonin rhythm in the lizard, *Tiliqua rugosa*. *Neuroscience Letters*. 106: 125–130.
- Firth, B.T., Belan, I., Kennaway, D.J., Moyer, R.W. (1999). Thermocyclic entrainment of lizard blood plasma melatonin rhythms in constant and cyclic photic environments. *The American Physiological Society*. 1620-1626.
- Foà, A. (1991). The role of the pineal and the retinae in the expression of circadian locomotor rhythmicity in the ruin lizard, *Podarcis sicula*. *Journal of Comparative Physiology A* 169:201-207.

- Foà, A., Flamini, M., Innocenti, A., Minutini, L., Monteforti, G. (1993). The role of extraretinal photoreception in the circadian system of the ruin lizard *Podarcis muralis*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 105A: 223-230.
- Foà, A., Janik, D., Minutini, L. (1992). Circadian rhythms of plasma melatonin in the ruin lizard *Podarcis sicula*: effects of pinealectomy. *Journal of Pineal Research* 12: 109-113.
- Gloyd, H.K. (1948). Description of a neglected subspecies of rattlesnake from Mexico. Chicago Academy of Sciences, Natural History Miscellanea 17:1-4.
- Gómez-Álvarez, G.; Reyes-Gómez, S.R., Teutli-Solano, C., Valadez-Azúa, R. (2007). La medicina tradicional prehispánica, vertebrados terrestres y productos medicinales de tres mercados del valle de México. *Etnobiología* 5:86-98.
- Gopar-Canales, K.L., Miranda-Anaya, M., Moreno-Sáenz, E., Barrera-Mera, B. (2010). Circadian locomotor activity in the juvenile red eared turtle *Trachemys scripta elegans*: free running and entrainment, *Biological Rhythm Research*, 41:4, 305-312.
- Graves, M., Duvall, D. (1985). Avomic prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis*) fail to attack rodent prey. *Z. Tierpsychol.* 67:161-166.
- Greene, H.W. (1999). Radiotelemetry and the annual cycle of Black-tailed Rattlesnakes (*Crotalus molossus*). Pages 134-135. En H.W. Greene, Snakes, the Evolution of Mystery in Nature. University of California Press, Berkeley.
- Greene, H.W., May, P.G., Hardy, D.L., Sciturro, J.M., Farrell, T.M. (2002). Parental behaviour by vipers. En G.W. Schuett, M. Höggren, and H.W. Greene, Biology of the Vipers, Eagle Mountain Publishing. Pp. 179-206.
- Griffiths, R. A. (1984). The Influence of Light and Temperature on Diel Activity Rhythms in the Sand Boa, *Eryx conicus*. *Journal of Herpetology*, Vol. 18, No. 4. pp. 374-380.
- Gruart, A., Delgado J. M., Escobar C., Aguilar-Roblero R. (2002). Los relojes que gobiernan la vida. Fondo de Cultura Económica. Ciencia para todos/ 188. México, pp. 197.
- Haus, E., Lakatua D. J., Sackett-Lundee L., Dumitriu L., Nicolau G., Petresan E., Pliga L., Bogdan C. (1998). Interaction of circadian, ultradian and infradian rhythms. En: Touitou Y. (ed.) Biological clocks. Mechanisms and applications. Elsevier Science, New York. pp. 141-150.
- Haldar, C., Pandey, R. (1989). Effect of pinealectomy on the testicular response of the freshwater snake, *Natrix piscador*, to different environmental factors. *Canadian Journal of Zoology* 67: 2352-2357.
- Hardy, D.L., Greene, H.W. (1999). Borderland blacktails: radiotelemetry, natural history, and living with venomous snakes. Pp. 117-121 En G. J. Gottfried, L. G. Eskew, C. G. Curtin, and C. B.

- Edminster (Eds.), Toward Integrated Research, Land Management, and Ecosystem Protection in the Malpai Borderlands: Conference Summary; 6–8 January 1999; Douglas, AZ. Proc. RMRS-P-10, U. S. Department of Agriculture, Forest Serv., Rocky Mt. Res. Sta., Fort Collins, Colorado.
- Hayes, W., Duvall, D. (1991). A field study of prairie rattlesnake predatory strike. *Herpetologica* 47, 78-81.
- Heckrotte, C. (1962). The effect of the environmental factors in the locomotor activity of the plains garter snake. *Animal Behaviour* X 3-4. Pp. 193-207
- Huey, R.B., Peterson, C.R., Arnold, S.J., Porter, W. (1989). Hot rocks and not-so-hot rocks: retreat site selection by garter snake and its thermal consequences. *Ecology* 70: 931-934.
- Innocenti, A., Bertolucci, C., Minutini, L., Foà, A. (1996). Seasonal variations of pineal involvement in the circadian organization of the ruin lizard *Podarcis sicula*. *Journal of Experimental Biology* 199:1189-1194.
- Innocenti, A., Minutini, L., Foà, A. (1994). Seasonal changes of locomotor activity patterns in ruin lizards
- Janik, D.S., Pickard, G.E., Menaker, M. (1990). Circadian locomotor rhythms in the desert iguana II. Effects of electrolytic lesions to the hypothalamus. *Journal of Comparative Physiology A* 166:811-816
- Jáuregui J. 2001. La serpiente emplumada entre los coras y huicholes. *Arqueología Mexicana* 53:28-35.
- Kardong, K.V., Mackessy, S.P. (1991). The strike behavior of a congenitally blind rattlesnake. *Journal of Herpetology*, 25, 208-211.
- Klauber, L.M. (1949). Some new and revived subspecies of rattlesnakes. *Transactions of the San Diego Society of Natural History* 11:61–116.
- Klauber, L.M., McClung, K. (1982). *Rattlesnake*. London, England: University of California Press.
- Kleinhoonte, A. (1929). Über die durch das Licht regulierten autonomen Bewegungen der Canavalia-blätter. *Archives Neerlandaises des Sciences Exactes* 5:1-110. En: Daan, Serge, 2010. A history of chronobiological concepts. Pp. 1-36. En: Albercht, Urs. (ed.) *The circadian clock*, Protein reviews Vol. 12. Springer Science.
- Krochmal, A.R., Bakken, G.S. (2003). Thermoregulation is the pits: use of thermal radiation for retreat site selection by rattlesnakes. *Journal of Experimental Biology*, 206, 2539- 2545.
- Liner, E.A., Casas-Andreu, G. (2008). *Nombres estándar en Español en Inglés y nombres científicos de los anfibios y reptiles de México/Standard Spanish, English and scientific names of the amphibians and reptiles of Mexico*. Second edition. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, *Herpetological Circular* 38.

- Lutterschmidt, D.I., Lutterschmidt, W.I., Ford, N.B., Hutchison, V.H. (2002) Behavioral Thermoregulation and the Role of Melatonin in a Nocturnal Snake. *Hormones and Behavior* 41, 41–50.
- Lutterschmidt, D.I., Lutterschmidt, W.I., Hutchison, V.H. (1997). Melatonin and chlorpromazine: Thermal selection and metabolic rate in the bullsnake, *Pituophis melanoleucus*. *Comparative Biochemistry Physiology C* 118, 271–277.
- Márquez de Prado García, B. (2004). Ritmos circadianos y neurotransmisores: estudios en la corteza prefrontal de la rata. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Menaker, M., Tosini, G. (1996). The evolution of vertebrate circadian system, pp. 39-52. En: Honma K, Honma S. (Edits). Circadian organization and oscillatory coupling. *Sapporo:Hokkaido University Press*.
- Menaker, M., Wisner, S. (1983). Temperature compensated circadian clock in the pineal of *Anolis carolinensis*. *Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A.* 80: 6119- 6122.
- Madrid-Sotelo, C.A., Balderas-Valdivia, C.J. (2008). Técnicas de colocación de radiotransmisores en serpientes. *Boletín de la Sociedad Herpetológica Mexicana*, 16 (1): 5-12.
- Mendonca, M.T., Tousignant, A.J., Crews, D. (1995). Seasonal changes and annual variability in daily plasma melatonin in the red-sided garter snakes (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *General and Comparative Endocrinology* 100: 226-237.
- Mendonca, M.T., Tousignant, A.J., Crews, D. (1996). Courting and non-courting male garter snakes (*Thamnophis sirtalis parietalis*): plasma melatonin and the effects of pinealectomy. *Hormones and Behavior* 30: 176-185.
- Meneghini, K.A., Hamasaki, D.I. (1967). The electroretinogram of iguana and tokay gecko. *Visual Research* 7:243-251.
- Morrow, M., Lenssen D., Roenneberg T. (2010). Comparative Clocks. En: Albrecht, U. (ed.), *The circadian clock*, Protein Reviews Vol. 12. Springer Science.
- Miller, W.H., Wolbarsht, M.L. (1962). Neural activity in the parietal eye of lizard. *Science* 135: 316-317.
- Minors, D.S., Waterhouse, J.M. (1989) Masking in humans: the problem and some attempts to solve it. *Chronobiology International* 6, 261–271
- Minutini, L., Innocenti, A., Bertolucci, C., Foà, A. (1995). Circadian organization in the ruin lizard *Podarcis sicula*: The role of the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus. *Journal of Comparative Physiology A* 176:281-288.

- Miranda-Anaya, M., Bartell, P., Yamazaki, S., Menaker, M. (2000). Circadian rhythm of ERG in *Iguana iguana*: Role of the pineal. *Journal of Biological Rhythms* 15:163-171.
- Miranda-Anaya, M., Bartell, P., Yamazaki, S., Menaker, M. (2002). Circadian rhythm of iguana electroretinogram: the role of dopamine and melatonin. *Journal of Biological Rhythms* December 2002 17: 526-538
- Miranda-Anaya, M., Corona-Lagunas, J., Bartell, P.A. (2007). Seasonal effects of pinealectomy on the locomotor activity rhythm in the lizard *Sceloporus torquatus*, *Biological Rhythm Research*, 38:2, 87-93
- Moore-Ede M. C., Sulzman F. M., Fuller C.A. (1982). A physiological system measuring time. En: *The clocks that time us. Physiology of the circadian timing system.* Harvard University press. Pp 1-29.
- Nelson, R.J., Mason, R.T., Krohmer, R.W., Crews, D. (1987). Pinealectomy blocks vernal courtship behavior in red-sided garter snake. *Physiology and Behavior* 39: 231-233.
- Oishi, T., Nagai, K., Harada, Y., Naruse, M., Ohtani, M., Kawano, E., Tamotsu, S. (2004). Circadian Rhythms in Amphibians and Reptiles: Ecological Implications, *Biological Rhythm Research*, 35:1-2, 105-120.
- Oliveira, M.E., Martins, M. (2001). When and where to find a pitviper: activity patterns and habitat use of a lancehead *Bothrops atrox*, in central Amazonia, Brazil. *Herpetol Natural History* 8: 101-110
- Ouyang, Y., Andersson C. R., Kondo T., Golden S. S., Johnson C. H. (1998). Resonating circadian clocks enhance fitness in cyanobacteria. *Proceedings of the National Acadademy of Sciences U S*; 95:8660-4.
- Paranjpe, D. A., & Sharma, V. K. (2005). Evolution of temporal order in living organisms. *Journal of Circadian Rhythms*, 3:7. <http://doi.org/10.1186/1740-3391-3-7>
- Park, O. (1940). Nocturnalism, the development of a problem, *Ecological Monographs*, pp 485-536.
- Pittendrigh, C. S. (1981). Circadian System: Entrainment. En Aschoff J. (Ed.) *Handbook of Behavioral Neurobiology*, Volume 4: Biological Rhythms. Pp 95-124. New York, Plenum Press.
- Pittendrigh, C. S., Minis D. H. (1964). The entrainment of circadian oscillators by light and their role as photoperiodic clocks. *The American Naturalist*. (98): 261-294.
- Pittendrigh, C. S., Kyner W. T., Takamura T. (1991). The amplitude of circadian oscillations: Temperature dependence, latitudinal clines and the photoperiodic time measurement. *Journal of Biological rhythms*, 6:299-313.
- Proske, U. (1969). Vibration-sensitive mechanoreceptors in snake skin. *Experimental Neurology* 23(1):187-194.

- Quay, W.B., (1979). The parietal eye - pineal complex, pp. 245-406. En: Gans C. *et al.*, (Edits). *Biology of the Reptilia 9, Neurology A. London: Academic Press.*
- Safer, A.B., Grace, M.S. (2004). Infrared imaging in vipers: differential responses of crotaline and viperine snakes to paired thermal targets. *Behavioural Brain Research* 154: 55-61.
- Sahagún, B. (1985). *Historia General de las Cosas de la Nueva España*. Ed. Porrúa, México.
- Saint Girons, H. (1971). Quelques facteurs du rhythm circadien d'activite chez les lepidosauriens (Reptiles). *Bulletin de la Société Zoologique de France*. 96:317-330.
- Salinas Matus, H. (2016). Las ventajas de la dispersión de semillas de *Pachycereus pringlei* (Cactaceae) por *Ctenosaura hemilopha* y *Sauromalus varius* (Iguanidae) en la Isla San Esteban, Sonora, México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sanvisens, Herreros, A. (1989). Ritmos y relojes biológicos, Introducción a la cronobiología. Vol. 1 Promociones y Publicaciones Universitarias. Barcelona, pp. 408.
- Sazima, I. (1988). Um estudo de biologia comportamental da jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Memo Inst Butantan* 50: 83-99.
- Schuett, G.W. (1992). Is long-term sperm storage an important component of the reproductive biology of temperate pitvipers? Pp. 169–184 En: Campbell JA, Brodie ED Jr, (Eds.), *Biology of the Pitvipers*. Selva, Tyler, Texas.
- Secor, S.M., Nagy, K.A. (1994). Bioenergetic correlates of foraging mode for the snakes *Crotalus cerastes* and *Masticophis flagellum*. *Ecology* 5:1600–1614.
- Shaw, A.P., Collazo, R., Easterling, K., Young, C.D., Cheryl, D., Karwoski, C. (1993). Circadian rhythm in the visual system of the lizard *Anolis carolinensis*. *Journal of Biological Rhythms* 8:107-124.
- Sokolove, P.G., Bushell, W.N. (1978). The chi square periodogram: its utility for analysis of circadian rhythms. *Journal of Theoretical Biology*. 72:131–160. [PubMed: 566361]
- Stephan, F.K. (2002). The “other” circadian system: food as a Zeitgeber. *Journal of Biological Rhythms* 17: 284–292.
- Tennant, A. (1984). *The Snakes of Texas*. Texas Monthly Press, Austin, Texas. 561 pp.
- Tilden, A.R., Hutchinson, V.H. (1993). Influence of photoperiod and temperature on serum melatonin in the diamondback water snake, *Nerodia rhombifera*. *General and Comparative Endocrinology* 92: 347-354.
- Tellería, J. L. (1991). *Zoología evolutiva de los vertebrados*. Editorial Síntesis, Madrid, pp.168.

- Thomas, K.R., Thomas, R. (1978). Locomotor Activity Responses to Photoperiod in Four West Indian Fossorial Squamates of the Genera *Amphisbaena* and *Typhlops* (Reptilia, Lacertilia). *Journal of herpetology*. , Vol. 12, No. 1. pp. 35-41
- Tosini, G. (1997). The pineal complex of reptiles: physiological and behavioral roles. *Ethology Ecology & Evolution* 9: 313-333.
- Tosini, G, Bertolucci C, Foà A. (2001). The circadian system of reptiles: a multioscillatory and multiphotoreceptive system. *Physiology & Behaviour* 72 461-471.
- Tosini, G, Menaker M. (1995). Circadian rhythm of body temperature in an ectotherm (*Iguana iguana*). *Journal of Biological Rhythms* 10: 248-255.
- Tosini, G, Menaker M. (1996). Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 272:419-421.
- Tosini, G, Menaker, M. (1998). Multioscillatory circadian organization in a vertebrate, *Iguana iguana*. *Journal of Neuroscience* 18:1105-1114.
- Tozetti, A.M., Martins, M. (2012). Daily and seasonal activity patterns of free range South-American rattlesnake (*Crotalus durissus*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2013) 85(3): 1047-1052.
- Tozetti, A.M., Vettorazzo, V., Martins, M. (2009). Shortterm movements of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in southeastern Brazil. *Herpetol J* 19: 201-206.
- Underwood, H. (1973). Retinal and extraretinal photoreceptors mediate entrainment of the circadian locomotor rhythm in lizards. *Journal of comparative physiology* 83: 187-222.
- Underwood, H. (1977). Circadian organization in lizards: The role of the pineal organ. *Science* 195:587-589.
- Underwood, H. (1981). Circadian organization in the lizard *Sceloporus occidentalis*: The effects of pinealectomy, blinding, and melatonin. *Journal of Comparative Physiology [A]* 141:537-547.
- Underwood, H. (1983). Circadian organization in the lizard *Anolis carolinensis*: A multioscillatory system. *Journal of Comparative Physiology [A]* 152:265-274.
- Underwood, H. (1985). Extraretinal photoreception in the lizard *Sceloporus occidentalis*: phase response curve. *American journal of physiology* 248:R407-R414
- Underwood, H. (1990). The pineal and melatonin regulators of circadian function in lower vertebrates. *Experientia*. Jan 15, 46(1): 120-128.
- Underwood, H. (1992). Endogenous Rhythms. *Biology of the Reptilia. Hormones, Brain, and Behavior*, Vol. 18 *Physiology E* (eds C. Gans & D. Crews), pp. 229–297. University of Chicago Press, Chicago.



- Underwood, H. (2000). Circadian organization in non mammalian vertebrates. En: Takahashi, Turek, Moree (Eds.) Handbook of behavioural neurobiology, vol 12. Circadian clocks. Kluwe. Academic, Plenum Press, New York, pp. 111 - 140.
- Underwood, H, Menaker M. (1970). Extraretinal light perception. Entrainment of the biological clock controlling lizards locomotor activity. *Science* 170: 190-193.
- Underwood, H, Menaker M. (1976). Extraretinal photoreception in lizards. *Photochemistry and Photophysiology*. Apr. 23(4): 227-243.
- Uribe-Peña, Z., Ramírez-Bautista, A., Casas-Andreu, G. (1999). Anfibios y Reptiles de las Serranías del Distrito Federal, México. Cuadernos 32, Instituto de Biología, UNAM, México D.F. 119 pp.
- Vivien-Roels, B., Arendt, J. (1983). How does the indoleamine production of pineal gland respond to variation of the environment in a non-mammalian vertebrate, *Testudo hermanni*, Gmelin. *Psychoneuroendocrinology* 8: 327-332.
- Yanovsky, M. J., Kay S. A. (2001). Signaling networks in the plant circadian system. *Current Opinion in Plant Biology*. 4, 429-435.
- Young, B.A., Aguiar, A. (2002). Response of western diamondback rattlesnakes *Crotalus atrox* to airborne sounds. *The journal of experimental biology* 205, 3087 – 3092.
- Young, B.A., Phelan, M., Jagers J, Nejman N. (2001). Kinematic modulation of the strike of the western diamondback rattlesnake, *Crotalus atrox*. *Hamadryad* 26(2): 316-349.