

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa



**NIVELES SÉRICOS DE HORMONAS GONADALES EN
EL LOBO GRIS MEXICANO (*Canis lupus baileyi*) EN LA
ÉPOCA NO REPRODUCTIVA.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA

GLADYS VARGAS SAMANIEGO

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTORA: DRA. REYNA CARMEN FIERRO PASTRANA

ASESOR: DR. GUILLERMO BLANCAS ARROYO

ASESOR: DR. HUMBERTO GONZÁLEZ MÁRQUEZ

16 de Noviembre de 2009.

La presente tesis titulada: Niveles Séricos de Hormonas Gonadales en el Lobo Gris Mexicano (*Canis lupus baileyi*) en la Época no Reproductiva, realizada por la alumna Gladys Vargas Samaniego, ha sido aprobada y aceptada por el Jurado como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

JURADO

PRESIDENTE	DRA. REYNA CARMEN FIERRO PASTRANA
SECRETARIO	DR. HUMBERTO GONZÁLEZ MÁRQUEZ
VOCAL	DRA. IRMA JIMÉNEZ MORALES
VOCAL	DR. GUILLERMO BLANCAS ARROYO

México, D. F., a 16 de Noviembre de 2009.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	5
ANTECEDENTES	18
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
HIPÓTESIS	23
MATERIAL Y MÉTODOS.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
PERSPECTIVAS.....	34
LITERATURA CITADA.....	36
APÉNDICE.....	40

La realización de los estudios de Maestría en Biología de la Reproducción Animal, así como parte del presente trabajo estuvo financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT con la beca con registro 153051.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Quienes me han dado los mejores regalos: La vida, su dedicación, esfuerzo y atención, para alcanzar cada sueño sin importar los tropiezos, siempre los llevo en mi mente.

A mis hermanas:

Por el apoyo y estímulo para seguir siempre adelante.

A mis sobrinas y cuñados:

Que me han llenado de momentos inolvidables.

A mi psicoanalista:

¡Lo logramos!

A mis amigos y compañeros de trabajo:

Por aguantar los malos humores e impulsarme a continuar.

A los miembros del jurado de mi examen:

Por su paciencia y apoyo en la culminación de este estudio.

Un especial agradecimiento:

Al M. en C. Jorge Iván Olivera y la M. en C. María Teresa Jaramillo Jaimes por su apoyo.

A todos mil gracias.

RESUMEN

El lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), está considerado como una especie extinta en vida silvestre, motivo por suficiente y de gran importancia para estudiar todos los aspectos incluyendo los reproductivos. Esto, para contribuir a la conservación y, en un futuro, poder reintroducirlo a la vida silvestre. El objetivo de esta investigación fue el caracterizar los niveles hormonales en sangre de las hormonas masculina principales, dihidrotestosterona y testosterona, del lobo gris mexicano en la época no reproductiva. El trabajo experimental se realizó en los zoológicos de Chapultepec y de San Juan de Aragón en el Distrito Federal; zoológicos de Zacango y Pueblo, Edo. de México; zoológico Ibarra, León Guanajuato; zoológico Áfricam Safari, Puebla; zoológico de Tamatán, Cd. Victoria; CIVS "San Cayetano", Estado de México y Rancho los Encinos, Chihuahua. La sujeción de los animales que se encontraban en instalaciones al aire libre se realizó mediante la técnica de inyección remota con cerbatana de Ketamina (4-5 mg/kg/PV) en combinación con xilasina (1.6-2 mg/kg/PV); para antagonizar se utilizó yohimbina (0.125 mg/kg/PV [IV o IM]). Una vez contenido el animal se obtuvieron 10 ml de sangre de la vena cefálica o safena, los tubos fueron preparados previamente con EDTA. Se encontró que los niveles de testosterona y dihidrotestosterona, son mayores que los que se presentan en perros; sin embargo, no hay una correlación entre los niveles de testosterona y dihidrotestosterona ($p < 0.5$). Se logró obtener los valores de las concentraciones en sangre de estas hormonas en época no reproductiva, lo cual es un gran avance pues pueden considerarse como valores de referencia.

INTRODUCCIÓN

El lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) es considerado, a nivel mundial, como la subespecie de lobo gris en mayor peligro de extinción^{12, 17, 20}, debido a que han sido repudiados por los ganaderos, quienes argumentaban que perdían sus becerros, vacas, caballos y burros por sus ataques, capaces de traspasar los cercados y acercarse hasta los mismos ranchos para cobrar sus presas^{11, 12, 17}. También se les responsabilizaba de propagar la rabia a otros animales silvestres, iniciando así una cadena que llegaba hasta los perros domésticos. Ambos argumentos fueron la razón por la que en los años 50 se les condenara al exterminio^{11, 12}.

Su mirada, poderosas mandíbulas con agudos colmillos y su melancólico aullido son adaptaciones que le permiten ser un depredador exitoso, comunicarse y sobrevivir. El lobo sólo ataca a sus presas para alimentarse (no está incluido el ser humano)¹⁶.

El lobo, irónicamente fue el primer animal que se domesticó, para transformarlo en “el mejor amigo del hombre”: el perro. Sin embargo, este hecho no impidió que continuara su persecución por considerarlo un peligro, lo que provocó su desaparición de más del 50% del territorio que alguna vez ocupó en América y su casi total erradicación de México¹⁶.

El lobo mexicano es una raza de lobo gris que se adaptó, con ligeros cambios morfológicos, conductuales y genéticos, a las condiciones de las sierras y mesetas del norte y centro de México y del sur de los Estados Unidos¹⁶.

Los acuerdos para llevar al cabo la campaña de erradicación del *Canis lupus baileyi* se tomaron entre las autoridades sanitarias de México y de Estados Unidos, durante la Convención de Nogales, efectuada el 26 de abril de 1949 por la Asociación Sanitaria Fronteriza Mexicana-Norteamericana, que promovió una campaña de envenenamiento con monofluoroacetato de sodio, un veneno llamado “1080”, actualmente prohibido en ambos países^{1, 11}.

En 1975, el Comité Conjunto para la Conservación de la Vida Silvestre constituido por México y Estados Unidos, vio la necesidad de preservar la subespecie y propuso un programa para su reproducción en cautiverio^{11, 17, 28}. Algunos de estos lobos, que se consideran linaje, por no tener hibridación con otra especie^{10, 11, 17}, se reprodujeron en México.

En 1995 se incorporó al programa un grupo reproductivo de lobos mexicanos que se mantenía en el zoológico de San Juan de Aragón¹¹; el cual se evaluó genéticamente demostrando que eran *Canis lupus baileyi* puros y por lo tanto podrían ser utilizados en cruzas para el programa de reproducción en cautiverio^{12, 17}. De la misma manera, se incorporó al programa otro grupo reproductivo de lobos mantenidos en el “Ghost Ranch”, en Arizona¹¹. De esta forma los niveles de consanguinidad en cada uno de esos linajes se lograron disminuir al formar con todos ellos un solo linaje llamado el linaje certificado^{12, 17}. Derivado de esto, se han realizado esfuerzos, en el ámbito genético a nivel molecular, que han permitido determinar la variabilidad genética dentro de las especies, subespecies o poblaciones, dentro de los que se encuentra la técnica del ADN fingerprinting, que sirve para determinar el grado de parentesco entre individuos⁵.

La Dirección General de la Vida Silvestre de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y el Instituto Nacional de Ecología (INE), están trabajando específicamente en la reproducción en cautiverio de la especie y en detectar sitios adecuados ecológicamente para reintroducirla en su hábitat natural ¹,
10, 11, 28.

A la par de los planes de reproducción y reintroducción del lobo mexicano en su ambiente natural se ha impulsado la realización de un proyecto de educación ambiental para mostrar a los ganaderos y personas que residen en los bosques donde habitan los lobos, la importancia que tienen depredadores como el lobo en el balance de las cadenas alimenticias, además de demostrarles el valor cultural de uno de los animales autóctonos de la fauna de México¹¹.

Actualmente no existen reportes de una población viable en vida libre, registrándose que el número de lobos vivos hasta julio del 2000 era de 223 (20 en libertad y 203 cautivos; 48 en México y 155 en E. U.)¹². Para abril de 2003 se censaron 90 ejemplares del linaje certificado en nuestro país y la población total de este linaje, incluyendo a los lobos mexicanos cautivos en los EUA y a los que fueron liberados en Arizona, suma alrededor de 250, por lo que el lobo mexicano aún es considerado como el que requiere mayor protección a nivel mundial, ya que se le considera el más escaso del planeta¹⁷. Actualmente no hay variación en cuanto al número, y se sigue considerando como un valor muy bajo.

Con base en lo anterior en la presente investigación, se abordan aspectos reproductivos del potencial hormonal de los machos en cautiverio. Conocimiento esencial par lograr controlar y estimular la reproducción en cautiverio de esta especie

que constituye un legado natural y es por demás una especie emblemática de nuestra fauna nacional.

MARCO TEÓRICO

DESCRIPCIÓN

El lobo es miembro de la clase *Mammalia*, es decir los mamíferos, en los que se encuentra la familia de cánidos^{1, 11, 20} conocida como *Canidae* (compuesta por 35 especies)¹, del orden Carnívora^{1, 11}, es una familia relativamente pequeña, aunque homogénea de cazadores genéricos; dentro de sus miembros se encuentran, además del lobo, los correspondientes a la zorra, al coyote y al perro doméstico^{1, 11}. Al igual que muchos otros mamíferos (incluido el ser humano), los perros o canes poseen pelo y alimentan a sus crías con leche¹.

Hace algún tiempo, la mayoría de los biólogos especialistas en lobos reconocían 24 subespecies de lobo gris que vivían en América del Norte. Esta clasificación se basaba principalmente en la localización geográfica o el tipo de hábitat en el que vivían. Nuevas investigaciones, relacionadas con las medidas del cráneo, han mostrado que varias de estas subespecies son similares¹.

El lobo gris se puede distinguir del lobo rojo (*Canis rufus*) por su gran tamaño, amplio hocico, orejas cortas. Se distinguen de los coyotes (*Canis latrans*) por ser un 50 a 100% más largos y tener un hocico amplio y largas patas⁷.

La especie *Canis lupus*, de nombre común lobo gris cuenta con veinticuatro subespecies; el lobo mexicano, *Canis lupus baileyi*, es una de ellas¹¹, es la subespecie menos conocida que habita en Norteamérica^{11, 27}, es considerada la subespecie más pequeña del lobo gris^{7, 12, 17} y está en vías de extinción^{1, 17, 25, 28}, su

clasificación se muestra en el cuadro 1. Este lobo ha sido considerado por los ganaderos del norte de México como el más importante depredador de ganado^{1, 17, 28}.

Cuadro 1. Clasificación del lobo mexicano

Reino: [Animalia](#)
Phylum: [Chordata](#)
Subphylum: [Vertebrata](#)
Clase: [Mammalia](#)
Orden: [Carnivora](#)
Familia: [Canidae](#)
Genero: [Canis](#)
Especie: [lupus](#)
Subespecie: [baileyi](#)

Su tamaño varía de manera relacionada, principalmente, con su localización geográfica, la población del sur más pequeña que la del norte. El largo del cuerpo desde la punta de la nariz a la punta de la cola es de entre 1000 y 1500 mm (la talla de un perro pastor alemán)^{1, 11, 16, 17}; en machos de 1000 a 1300 mm^{7, 16, 20} y en hembras de 870 mm a 1170 mm^{7, 16, 20}. Los machos pueden llegar a alcanzar más de 75 cm. a la altura de los hombros¹¹. El largo de la cola está en el intervalo de 350 a 520 mm^{1, 7}.

Su cabeza es grande, de hocico largo y macizo, gran nariz y agudo sentido del olfato²⁰, con una crin a manera de melena, que crece de la base del cuello a los lados de la cara^{1, 16, 17}.

Poseen ojos en posición conspicua^{16, 17}, excelente oído¹ debido a que tiene las orejas erguidas y redondeadas^{1, 20}, que giran para ayudar a encontrar la dirección de los sonidos²⁸ (miden alrededor de 5 cm)¹.

Pesan entre 20 y 40 kg^{1, 16, 17, 20}, los machos de 30 a 80 kg, con un promedio de 55 kg^{11, 20}, las hembras pueden pesar de 23 a 55 kg^{11, 17} con un promedio de 45 kg^{1, 7, 11}. Su altura (medida de la base de la pata al hombro) generalmente se encuentra en el intervalo de 60 a 90 cm^{7, 16} alcanzando un promedio de 75 cm^{1, 11, 17, 20}. Su cola es larga y con pelo denso^{1, 20}, de color amarillo blanquecino con pelos negros en la parte superior dorsal y en el extremo^{1, 11} y, frecuentemente, la llevan hacia abajo o recta (erguida), pero nunca se enrosca^{11, 17}.

Los colores predominantes en esta subespecie son amarillo con sombreados negros en el pelo de la espalda y en las partes superiores de los flancos^{11, 17, 20} y tiende a ser mimético respecto del hábitat^{11, 20}; la garganta suele mostrar un collar de color negro dado por las puntas de los pelos de color oscuro^{1, 11, 20}. Aunque varía la longitud, en verano es corto mientras que en invierno tupido^{16, 17}. Se dice que los largos pelos de su cuello pueden erizarse al enfrentar alguna situación de peligro²⁰.

Una buena parte de la cabeza es negra sobre un fondo gris^{1, 11, 20}; la orilla de los labios y la parte inferior de la mandíbula es de color marrón oscuro, siendo negro el color base del hocico, más pálido en la corona y alrededor de la superficie basal adyacente de las orejas y en la superficie convexa de éstas^{1, 11}.

Bajo la piel tiene una densa capa, excelente protector contra las condiciones de insolación y frío^{7, 20}. Las patas son grandes^{1, 16}, fuertes¹⁶ y los cojinetes anchos, con una superficie promedio de 10 cm x 8.5 cm¹, color blanco amarillento, más profundo en los carpos y en la parte posterior de las patas traseras¹¹. En las patas anteriores existe una línea angosta rojiza o más oscura de pelos negros y grises que forman una marca conspicua¹¹. Son lo suficientemente largas para conseguir gran velocidad, mientras que el cuerpo es compacto para conseguir resistencia²⁰. Tiene

cinco dedos en las delanteras, cuatro en las traseras y con uñas no retráctiles^{1, 11, 20}. De hecho, los cánidos caminan sobre sus dedos (digitígrados), que están especialmente adaptados a la estructura esquelética de la pata para reducir el impacto al correr^{11, 20}. Están bien adaptados a la carrera y pueden mantener un trote o un paso galopante por largas distancias^{1, 20}.

Su coloración es muy variable, ya que va desde un color blanco crema, pasa por rojizo arenoso hasta negro. También presenta variaciones en un mismo individuo dependiendo de la época del año y la edad. Son comunes los ejemplares completamente melánicos, particularmente en las poblaciones del noroeste americano^{11, 20}.

Su estructura ósea refleja un bajo grado de especialización, en la que es particularmente notable la longitud relativamente grande de sus patas comparadas con la del resto del cuerpo¹¹. La mayoría se sostiene en una posición elongada, con las piernas semi-rígidas terminadas en patas bien desarrolladas^{1, 11}.

Los cánidos poseen un equipo dental afilado y fuerte^{1, 20}, consiste en 42 piezas que se hallan apareadas en una y otra mandíbulas, excepción hecha de los molares, por lo que tienen en total 20 piezas en la mandíbula superior y 22 en la inferior^{11, 20}. Son muy notables, sobre todo, los cuatro dientes caninos localizados en las orillas frontales de la boca y que son bastante grandes, aunque no tan afilados como los de los felinos, los cuales usan para asir a sus presas, así como para desgarrar grandes porciones de carne del cuerpo de éstas^{11, 20}.

Los dientes caninos inferiores están dispuestos de tal modo que encajan con los huecos de entre los correspondientes a la mandíbula superior cuando la boca se cierra (diastema). Los incisivos, ligeramente curvados hacia dentro y situados entre

los caninos, al frente de la boca, son usados para asir las presas y desprender de ellas piezas pequeñas de tejido^{11, 20}.

Los premolares y molares completan la dentición de los cánidos y les sirven para romper, triturar y moler el alimento, aunque ninguno de los representantes de la familia pasa mucho tiempo masticando la comida y todos ellos acostumbran tragar grandes trozos¹¹.

Se alimentan de pequeños y grandes mamíferos, pájaros, pescado, lagartijas, serpientes, ranas, insectos y fruta^{7, 11, 20}. La presa habitual de lobo mexicano parece haber sido el venado cola blanca. También se sabe que cazaba pecarí de collar, así como conejos y otros mamíferos medianos y pequeños. Ocasionalmente cazaba berrendos y quizá borregos cimarrones, aunque las poblaciones de éstos herbívoros fueron diezmadas por los humanos en México^{16, 17}.

El tamaño de las presas que cazan los lobos depende del número de lobos que participa en la cacería^{7, 11, 20}. Así se piensa que un grupo grande de lobos caza animales más grandes y un grupo pequeño caza presas de menor talla^{11, 25}. Esta hipótesis del tamaño de grupo en el lobo mexicano es apoyada por recientes estudios del tamaño de grupo y la accesibilidad a presas de cierta talla, en otros grandes carnívoros depredadores²⁵. Un lobo puede consumir arriba de 9 kg de carne en una comida⁷.

Vive en parejas²⁰ y el promedio de vida del lobo gris en cautiverio es de 15 años, aunque en estado silvestre se especula que sólo alcanzan a vivir entre 7 y 8 años^{1, 7, 11, 20} y tan sólo se reproducen durante 8 años de su existencia^{1, 11}. Como adultos, generalmente mueren de viejos o de lesiones recibidas cuando cazan o pelean con otros lobos⁷.

Sus refugios son cuevas, rocas y madrigueras. El clima de la región abarca desde veranos templados húmedos con lluvias y los inviernos fríos²⁰.

DISTRIBUCIÓN

Los primeros cánidos llegaron a Europa hace siete millones de años, pero fue Eucyon, hace cuatro o seis millones de años, el que dio origen a la mayoría de los actuales cánidos, como los lobos, coyotes y cachalotes²⁶.

La ubicación del *Canis lupus*, fue en casi todo el mundo, en el hemisferio norte, desde el Ártico continuando al sur a una latitud de 20° S, norte de África y sur de Asia. La región de América del Norte ofrece un gran acervo geológico de lobos y sus parientes más cercanos. Los fósiles son los remanentes más sorprendentes del pasado de los cuales podemos obtener información²⁶.

En estado silvestre habitan en los bosques y pastizales medianos arborescentes^{11, 26}; prefieren los bosques montañosos de pino y encino por la favorable combinación de vegetación, agua y abundancia de presas^{10, 27}, pero también se encuentra en hábitat áridos²⁷. Debido a la destrucción de su hábitat y a la persecución por los humanos, actualmente ocupan solamente dos tercios de lo que fue su distribución en el mundo (Figura 1)^{26,17}. Áreas aledañas a Estados Unidos, Alaska, Canadá, México^{7, 17} (una reducida población) y Eurasia⁷.

En América

Para cuando los primeros pobladores de nuestro continente cruzaron el estrecho Bering, el lobo gris ya se había establecido en América del Norte, debido a que se dispersan

viajando grandes distancias. Los lobos y los coyotes sobrevivieron la extinción que ocurrió hace 10000 años¹.

Se cree que durante la última glaciación Pleistocénica algunas poblaciones se refugiaron en cinco áreas: Alaska, norte de Groelandia, centro del actual territorio de Estados Unidos, este del mismo y la parte neártica del actual territorio de México, por que se vieron libres de los hielos¹.

El lobo, históricamente, se ha localizado en los bosques de las montañas del suroeste de los Estados Unidos y en las regiones del norte y centro de México^{1, 17, 19}.

En México

El lobo gris mexicano se distribuyó desde el sur de Arizona, el sureste de Nuevo México y oeste de Texas^{17, 20}, en los Estados Unidos de Norteamérica a través de las mesetas y montañas templadas de Sonora a Tamaulipas hacia el sur, hasta Michoacán, Puebla y norte de Oaxaca¹⁷.

En el norte de México los lobos se encontraban en la mayor parte de la Sierra Madre Occidental^{1, 17, 20,25} de Chihuahua y Durango, al oeste del desierto de Chihuahua; en el extremo noroeste de Zacatecas y borde este de Sonora. También en las montañas de Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí^{17, 20}. En el sur, los lobos se encontraron en la vertiente oriental del Pico de Orizaba, Veracruz, en donde fue cazado un espécimen, que es el ejemplar de museo colectado más al sur. También se hallaron en el Nevado de Toluca, Estado de México, en los alrededores del Lago de Pátzcuaro, Michoacán y en las montañas del norte de Oaxaca¹⁷.

Su hábitat se ha restringido al norte del país^{1, 11}. Hasta 2004 no se encontró evidencia de poblaciones en vida libre, por lo que todos los individuos existentes estaban situados en zoológicos o encierros construidos especialmente para su reproducción²⁷; como: zoológico de Chapultepec y San Juan de Aragón, en el Distrito Federal; reserva ecológica de Michilía, en Durango, y en el rancho “Los Encinos”, en Chihuahua¹.

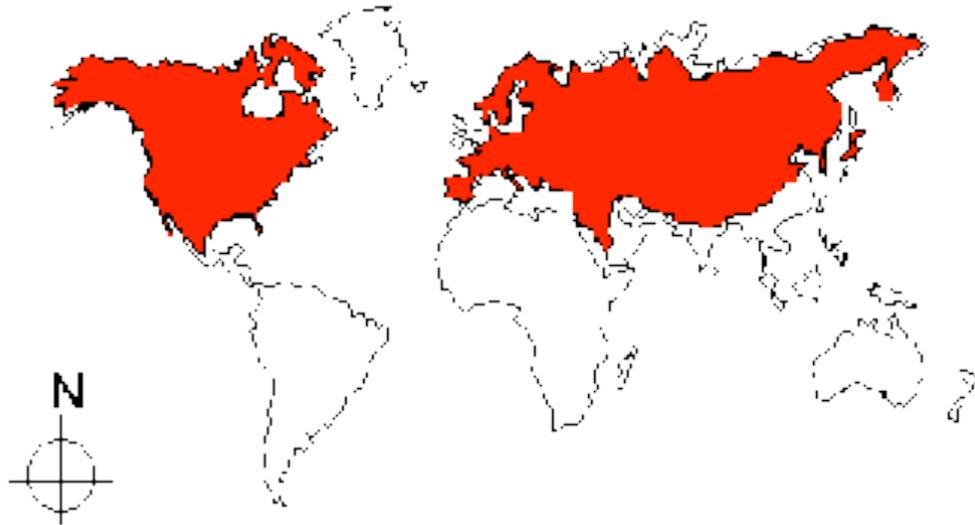


Figura 1. Distribución Mundial del género *Canis*.

MANEJO

En la conservación y restauración del lobo mexicano existen algunos puntos diversos y complicados, tanto en el aspecto científico como en la forma práctica de llevarlas a cabo²¹.

A partir de que en 1975, el lobo mexicano fue incluido dentro del Acta de las Especies en Peligro de Extinción de los Estado Unidos, el USFWS, realiza todos los esfuerzos posibles y necesarios para recuperarlo¹⁷.

Para 1977, la Oficina de Especies en Peligro, del USFWS, establece un acuerdo conjunto con el gobierno mexicano para iniciar una evaluación en las montañas del norte de México y tratar de determinar la situación de las últimas poblaciones de lobos, durante los primeros meses de ese año, se localizó y estimó que la población total de este cánido no superaba los 50 individuos, los cuales se encontrarían dispersos, en pequeños grupos, parejas o como individuos solitarios, en un área gigantesca. Con la anuencia del gobierno mexicano, a fines de 1977 y principios de 1978, se capturaron vivos dos lobos en la Sierra del Nido, Chihuahua, y cuatro más cerca de Coneto, Durango. Estos animales fueron enviados a los Estados Unidos para iniciar un programa de reproducción en cautiverio, que tendría como objetivo incrementar el número de lobos mexicanos, hasta llegar a un número que permitiera reintroducirlos en algún área protegida. Esto ha representado un riesgo para la viabilidad genética de la población existente de lobos mexicanos, pues al haber sido el grupo fundador tan reducido en número, existe entre todos sus descendientes un alto grado de consanguinidad ^{10, 17}. A pesar de ello, se ha logrado incrementar considerablemente el número de estos lobos, que son conocidos como lobos de "Linaje Certificado", pues su pureza fue determinada mediante estudios genéticos que se les practicaron antes de incorporarlos al Programa de Reproducción en Cautiverio. En el año de 1988, México inicia sus propios esfuerzos para reproducir en cautiverio al lobo mexicano, con la llegada de tres parejas procedentes de los EUA. Una pareja más se recibe al año siguiente y a finales de 1993, se reciben dos parejas más y, junto con algunos de los descendientes de otra, se formaron dos parejas reproductoras más¹⁷.

Los programas de reintroducción se realizan con animales que han sido criados en cautiverio. La introducción de nuevos fundadores a una población cautiva de lobos puede acelerar los efectos de entrecruzamiento y la pérdida de la variabilidad genética¹⁰.

El Servicio de Pesca y Vida Silvestre de los Estados Unidos (USFWS) ha propuesto volver a introducir una población experimental de lobos mexicanos que no sea esencial; por lo cual “El Plan de Recuperación del Lobo Mexicano” recomienda el establecimiento y mantenimiento de una población en cautiverio, y el restablecimiento de la población silvestre¹⁹.

Las técnicas y programas reproductivos para la recuperación de ésta especie es de vital importancia por lo que, en México, se han publicado diversos trabajos sobre sus características reproductivas. Sin embargo, dada la limitación existente sobre el tema, las investigaciones encaminadas a conocer la fisiología reproductiva de éstos animales han motivado que se realicen estudios del ciclo estral del Lobo Gris Mexicano a través del uso de la citología vaginal exfoliativa, logrando incrementar la eficiencia reproductiva en cánidos domésticos, mismo que puede servir como una herramienta de diagnóstico de las etapas del ciclo estral del lobo gris mexicano con el fin de apoyar el programa de reproducción y lograr evitar que se extinga²¹.

REPRODUCCIÓN

El sistema reproductivo de los cánidos incluye muchos rasgos que son inusuales o únicos entre los mamíferos. En el caso particular del lobo gris, se

incluyen la monogamia, el monoestro con unas fases excepcionalmente largas de proestro y diestro; así como una cópula cerrada o atada⁴.

La pubertad generalmente ocurre a los 22 meses de edad, tanto en machos como en hembras; esta es definida respectivamente por la primera producción de esperma y la primera ovulación⁴. En algunas ocasiones, bajo ciertas circunstancias, tales como la muerte de la hembra dominante, el primer estro puede ocurrir a partir del año de edad²⁴.

El apareamiento entre los lobos ocurre durante el invierno^{1, 20} o la primavera, según las regiones en que habiten, posteriormente hay un periodo de gestación de aproximadamente 62 días¹.

CONDUCTA

Es un animal sociable que forma manadas que desarrollan un trabajo coordinado en la cacería^{4, 16, 20} y la crianza de los cachorros. Generalmente se reúnen en manadas de tres a cinco individuos^{16, 20}. Hasta el momento se han descrito 37 conductas en lobos mexicanos en cautiverio, las cuales se integran en cinco grandes categorías: conductas amistosas, sumisas, juego, sexuales y agonísticas (agresión-defensa)²⁶.

En los grupos de cánidos se observan algunas características de la conducta muy específica como su marcaje de territorio, la dominancia de un cierto grupo dentro de la manada, lo que establece una supresión en la reproducción⁹. Por lo anterior, se establece que la jauría típica del lobo gris es una familia liderada por un

ejemplar dominante, una pareja de crianza y sus jóvenes subordinados, algunos de los cuales pueden ser post púberes¹⁵.

Las nuevas jaurías se forman por la dispersión de lobos que se aparean y producen jóvenes. En la crianza se incrementa el marcaje (orina) territorial por el macho, y como particularidad se tiene que solo la hembra y macho dominantes, marcan su territorio (mayor frecuencia de machos que de hembras), hecho que parece que tiene relación con la formación y mantenimiento del vínculo de pareja. Todos los miembros de la jauría, incluyendo los machos, pueden proteger y jugar con los cachorros y proveer a las madres y crías³.

Es monógamo y como se ha mencionado, limita la incorporación de jóvenes adultos dentro del grupo social y presenta conducta supresora de apareamiento en esos jóvenes subordinados, obligando a una pseudo gestación en hembras subordinadas y dando lugar a un cuidado aloparental^{4, 18, 20}. Dada la condición jerárquica, la agresión de individuos jóvenes que están integrados a la jauría es muy frecuente^{6, 14}.

Durante el periodo reproductivo, los lobos exhiben con mayor frecuencia algunas de las categorías de conducta, exceptuando la de juego²⁶.

A pesar de que mata para comer, el lobo sólo ataca a sus presas para alimentarse, y ciertamente, el ser humano no está incluido en su menú. No obstante, el lobo ha desarrollado adaptaciones y comportamientos por los cuales algunas culturas y personas lo admiran: lealtad, fidelidad, valentía y astucia, entre otras^{16, 20}.

Es de hábitos preferentemente nocturnos¹⁷; además, tiene un sistema de comunicación sofisticado que va desde aullar hasta marcar con olor para advertir a otras manadas o individuos de su presencia. El lobo, como los otros cánidos es un

carnívoro con un gran repertorio de vocalizaciones, pues gruñen, ladran y chillan.

Sus refugios son cuevas, rocas y madrigueras²⁰.

ANTECEDENTES

Los estudios que hasta el momento se han realizado, en materia de reproducción del *Canis lupus Bbaileyi*; abarca desde aspectos conductuales, hasta endocrinológicos; sin embargo, ha habido diversas limitantes. Unas de ellas, y al parecer las más importantes, son la cantidad de ejemplares disponibles para cada uno de los estudios; la edad, las condiciones de los encierros e incluso, los apoyos económicos que coadyuven a la obtención de mayor cantidad de datos.

En específico, el lobo gris mexicano, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001²³ protección ambiental de especies nativas de México de flora y fauna silvestres, la categoría de riesgo en la cual se encuentra la especie que en el presente estudio nos ocupa, es la “E”, que se refiere a las especies probablemente extintas en el medio silvestre.

Para el manejo de animales silvestres, es importante que se ponga especial consideración el estrés, en particular, cuando se requiere que se realicen estudios que apoyen en la obtención de información útil para el conocimiento de la especie; tal como lo hizo Rivera²² en 2003.

El lobo es una especie que, actualmente, ha comenzado a tomar importancia; en especial desde que la ecología se vio como una alternativa para la conservación de los sistemas bióticos.

Como es sabido, en los borregos la estacionalidad de su reproducción depende del fotoperiodo, por lo cual en 1981, Asa y colaboradores², se empeñaron en verificar en un grupo de 12 lobos si la glándula pineal tenía algún papel importante en

el proceso de fotoperiodo para establecer la estación de reproducción; para lo cual, a ocho animales se les practicó una pinealectomización. Sin embargo, no se encontró diferencia entre las concentraciones de testosterona (T) de los animales a los que se les extirpó la glándula pineal de los animales testigos sin operar; por lo que no puede establecerse que la época reproductiva está directamente relacionada con el fotoperíodo.

Ahora bien, otra limitante que encuentra la reproducción en los lobos, es la jerarquía de cada individuo en la jauría. De tal manera que Packard y colaboradores¹⁸ en 1985, al realizar las observaciones en un grupo de 5 lobos cautivos, lograron concluir que posiblemente, aun cuando parecen ser fisiológicamente capaces de reproducirse, no lo harán en una sociedad con alta competencia sexual y sugieren que la relación antagónica de estas conductas, pueden influir en la base activa hormonal tanto de hembras como de machos, en específico, de la conducta de cópula.

Hradecký⁹ (1985), sugirió que, incluso en ese tipo de conductas suprimidas por la jerarquía de los individuos, podría deberse a las feromonas, al igual que se da en otras especies, tales como coyotes, perros de caza, mangostas y leones. Este efecto llamado feromonal, se ha estudiado más profundamente en roedores, pero sin establecer que exista realmente una correlación positiva entre el efecto biológico de las feromonas carnívoras. Una conducta que pudo haberse tomado como ejemplo de este efecto, es el marcaje territorial, mismo que se ha observado que se presenta mayormente en machos dominantes que en los dominados; sin embargo, no se ha demostrado que tenga que ver directamente con el factor feromonal.

Así, para 1990, Asa y colaboradores³ observaron que la influencia hormonal en el marcaje urinario del *C. lupus* es modulado por factores sociales, a diferencia de lo que se presenta en perros domésticos y coyotes. Los resultados de estos estudios, demostraron que los machos de lobo, orinan más frecuentemente que las hembras, sin haber diferencia entre los subordinados y prepúberes, valores que no difieren de los presentados en perros domésticos. De tal forma que las hormonas gonadales son necesarias pero no suficientes para que se estimule el efecto de marcaje urinario.

Soto y colaboradores (2004)²⁷, mencionan que en cuanto al comportamiento y estructura social hay algunos estudios pero son pocos los relacionados a su fisiología reproductiva. Así que el trabajo describe, en una pareja (macho-hembra) de lobo mexicano, los perfiles de hormonas esteroides sexuales (HES) durante las estaciones de invierno y primavera que son cuando se reproducen, cuantificaron progesterona (P_4), testosterona (T) y estradiol (E_2) en heces fecales. Las muestras de sexo desconocido se sexaron a partir de la concentración diferencial de T. Validado lo anterior, el perfil hormonal de P_4 y T en el macho resultó ser de tipo cíclico, mientras que el de E_2 no tuvo cambios significativos durante toda la temporada, siendo su concentración inferior a las de P_4 y T.

JUSTIFICACIÓN

El lobo gris mexicano es una especie que se encuentra clasificada como extinta en el medio silvestre, motivo por el cual, es de primordial importancia que se realicen estudios en el manejo reproductivo de los ejemplares que aún quedan en cautiverio y apoyar con ello la conservación de este cánido. Una de las limitantes para realizar la reproducción en esta especie, es la estacionalidad reproductiva, por tal motivo, al conocer los niveles de testosterona y dihidrotestosterona durante la época no reproductiva, apoyará a establecer acciones para hacer más eficientes los períodos reproductivos en la especie.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los perfiles hormonales de Dihidrotestosterona (DHT) y Testosterona (T) en machos de Lobo gris mexicano en época no reproductiva.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Realizar visitas a los centros de concentración de lobo gris mexicano (*C. lupus baileyi*), para determinar los animales disponibles para la obtención de muestras.
- 2) Obtener muestras sanguíneas de lobos en cautiverio.
- 3) Determinar las concentraciones de hormonas Dihidrotestosterona y Testosterona en el lobo gris mexicano en época no reproductiva.

HIPÓTESIS

Dada la estacionalidad de época de reproducción del lobo mexicano, los niveles séricos de testosterona y dihidrotestosterona que se presenten durante el estado de reposo reproductivo, estarán en su nivel basal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Procedencia de la población de estudio.

El trabajo experimental se realizó en zoológicos y encierros especiales y en los centros de manejo y reproducción en cautiverio. Estos fueron: zoológicos de Chapultepec y de San Juan de Aragón en el Distrito Federal, zoológico de Zacango y de Pueblo en el Estado de México, zoológico Ibarra en León Guanajuato, zoológico Áfricam Safari en Puebla, zoológico de Tamatán en Cd. Victoria, en el CIVS “San Cayetano”, en el Estado de México y en el Rancho los Encinos, en Chihuahua.

Población, tratamiento y manejo.

Como resultado de las inspecciones de los distintos encierros, se obtuvieron 15 donadores de distintas procedencias. Para la sujeción de los ejemplares en instalaciones al aire libre, se utilizó la técnica de inyección remota con cerbatana, dirigiéndola hacia las masas musculares del muslo o a la placa del cuello. La inyección contenía ketamina (4-5 mg/kg/PV) en combinación con xilasina (1.6-2 mg/kg/PV); una vez obtenida la muestra sanguínea se utilizó yohimbina (0.125 mg/kg/PV [IV o IM])⁸ para antagonizar el efecto de sedación. En los organismos que se encontraban en instalaciones cerradas, la sujeción fue física (Figura 2).



Figura 2. A la izquierda se observa un lobo en el zoológico de Chapultepec. A la derecha, el método de contención física y la toma de muestra.

Se tomó una muestra de sangre de 10 ml de la vena cefálica o safena previa asepsia y antisepsia (Figura 2). Los tubos de colección estuvieron preparados con EDTA rigurosamente. Cada tubo se identificó con el nombre y el número de registro del lobo, así como con la fecha y hora de la toma. La muestra se agitó suavemente y se resguardó a temperatura de laboratorio en un lugar fresco y cubierto para evitar contacto con la luz. El análisis se realizó mediante Radio Inmuno Análisis (RIA) en fase sólida con kits comerciales para determinar hormonas gonadales (T y DHT), proceso efectuado antes de cumplir 24 horas de la obtención, utilizando Yodo 125 (^{125}I) como marcador de Testosterona² (apéndice 1). La fase de laboratorio de efectuó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa,.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ubicación de los centros de concentración y animales a muestrear

De julio de 2004 a enero de 2005, se realizaron visitas a los centros de concentración de lobo gris mexicano (*C. lupus baileyi*), para determinar los animales disponibles para la obtención de muestras.

El total de animales utilizados para el presente estudio fue de 15, distribuidos sin uniformidad, debido a la disponibilidad de los mismos y para evitar, en la medida de lo posible, el manejo excesivo para la obtención de muestras.

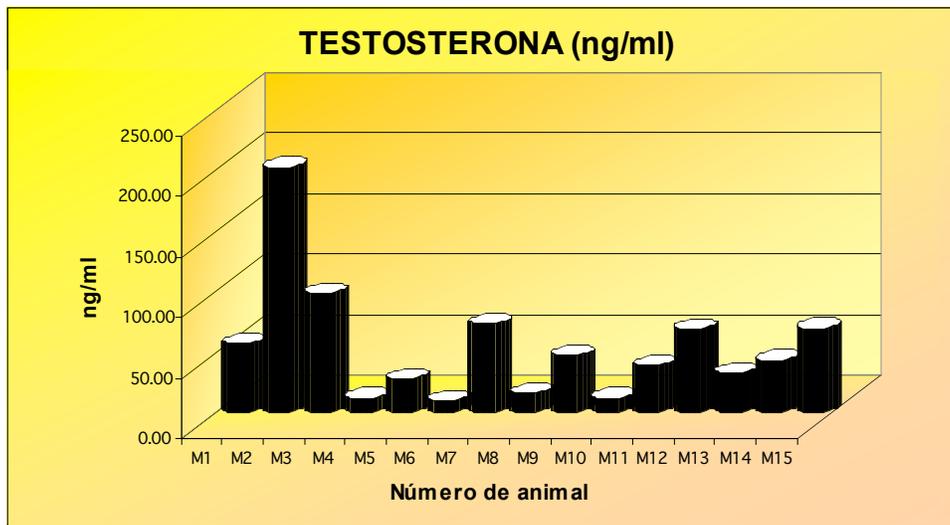
Concentración hormonal

Se obtuvo una muestra sanguínea por cada organismo disponible, de los cuales se registró su peso en kg, y la edad correspondiente. Se determinó la concentración en nanogramos para testosterona y picogramos para dihidrotestosterona, obteniéndose las concentraciones reportadas en la tabla 1.

Las concentraciones para T, variaron de 9.0 a 202.46 ng/ml, teniendo un promedio de 5351 ± 48.91 ng/ml. Las fluctuaciones de los valores registrados, pudieran deberse a las distintas edades, y condiciones de encierro, , (la altitud en la cual se encuentra cada uno de ellos, el tipo de alimentación y manejo que cada uno de los organismos muestreados). Las diferencias en cuanto a la concentración son evidentes y se muestran en la gráfica 1.

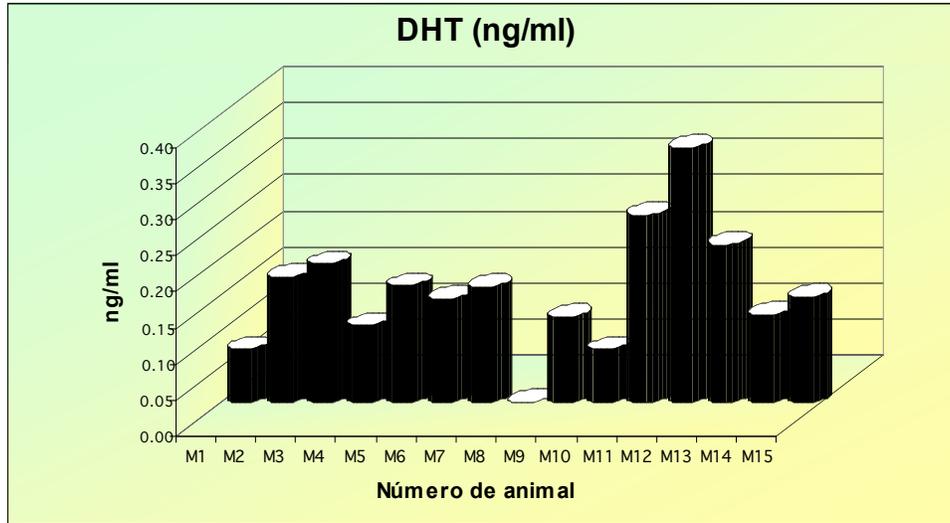
Tabla 1. Valores de Testosterona (T) y Dihidrotestosterona (DHT) obtenidos en 15 animales de Lobo mexicano, en distintos encierros.

# Muestra	Peso (kg)	T (ng/ml)	DHT (pg/ml)	Edad (Años)
M1	28.200	56.27	73.10	1
M2	36.600	202.46	172.96	6
M3	42.000	98.20	191.83	12
M4	.-----	11.50	106.56	2
M5	-----	27.60	161.17	5
M6	32.100	9.00	143.49	10
M7	38.000	72.80	159.38	-----
M8	27.000	15.40	-----	8
M9	-----	46.80	117.96	1
M10	30.000	11.60	73.35	2
M11	30.000	38.40	260.06	10
M12	35.400	68.60	352.43	10
M13	25.500	32.50	218.67	2
M14	.	42.60	120.76	3
M15	.	68.90	145.79	5
Promedio		53.51	153.16	
Desviación estándar		48.91	83.78	



Gráfica 1. Concentración de Testosterona en suero sanguíneo de lobo mexicano en época no reproductiva.

La concentración de DHT, un metabolito de la testosterona, se determinó encontrándose los valores de 73.10 a 352.43 pg/ml. El promedio fue de 153.16 ± 83.78 pg/ml. Para poder realizar una correlación entre la concentración de T y DHT, se realizó la conversión de picogramos a nanogramos, dando como resultado un intervalo de 0 a 0.35 ng/ml, con un promedio de 0.15 ± 0.08 (Gráfica 2).



Gráfica 2. Concentración de DHT en suero sanguíneo de lobo mexicano en época no reproductiva.

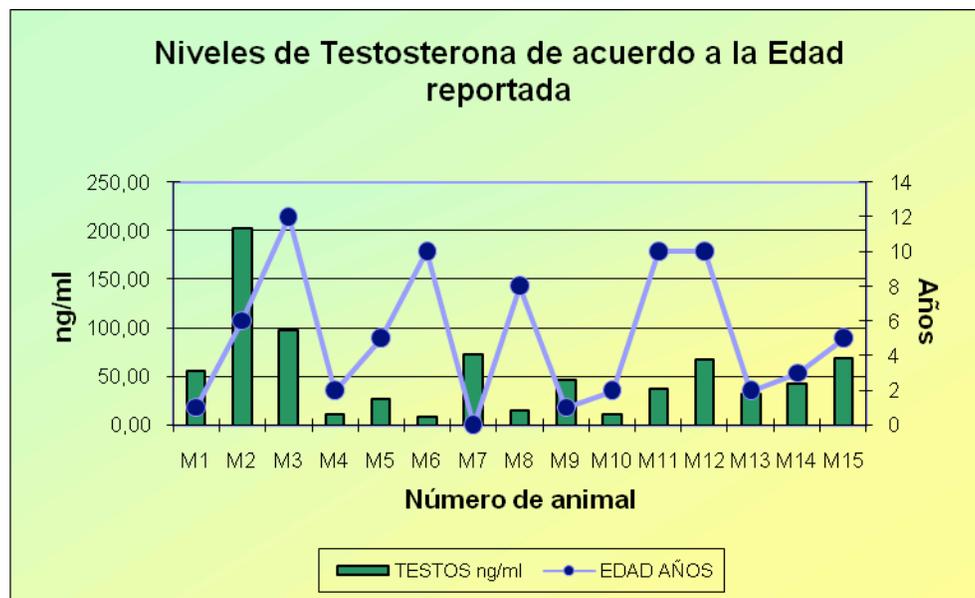
El coeficiente de correlación estadístico entre las concentraciones de T y DHT fue de 0.21 ($P < 0.05$), de tal manera que los niveles séricos de DHT, no dependen de la concentración de T en sangre.

Como es sabido, la DHT posee una potencia androgénica mayor que la testosterona, lo que implicaría un alto potencial reproductivo en animales con presencia significativa de DHT. Al respecto, los hallazgos encontrados en la presente investigación, de niveles mínimos basales de DHT, explicarían la no reproducción en cautiverio a pesar de presenta niveles altos de testosterona, por tratarse del precursor de la dihidrotestosterona. Lo anterior podría sugerir, que las condiciones de encierro influirían en la acción de la 5α -esteroide reductasa.

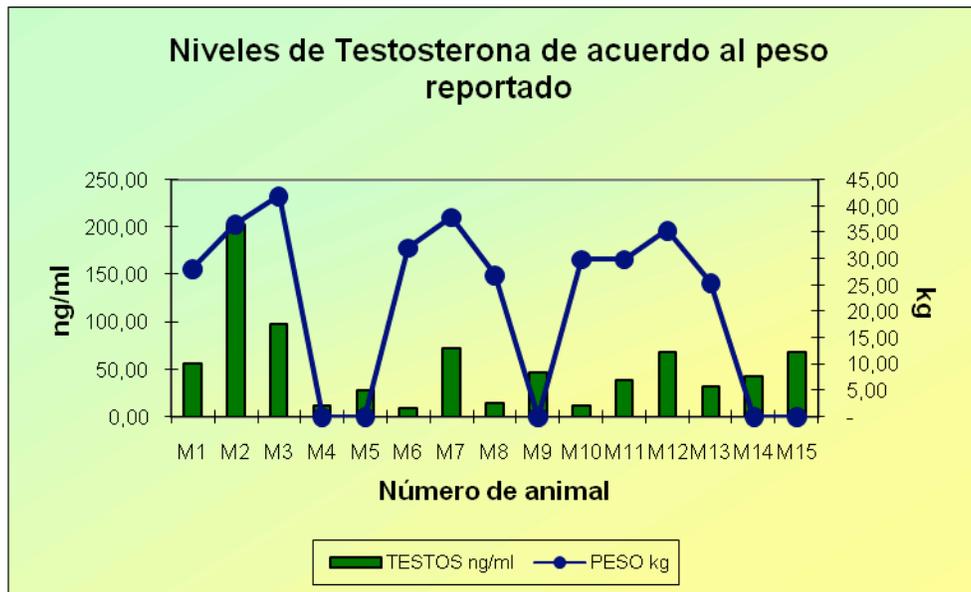
Las gran variabilidad que se presenta en los datos obtenidos, probablemente tiene que ver, en gran medida, con el tipo de estrés al que estén sometidos los animales, ya que el simple hecho de tenerlos en encierros, por grandes que estos

sean, limitan las conductas que en vida libre tiene cada especie silvestre como lo estudio Rivera (2003)²². Hasta el momento son pocos los estudios de la concentración sérica de hormonas en machos, por lo cual no es posible comparar los valores normales encontrados en este estudio. Los valores de T en perros adultos¹³ van de 0.5 a 1.5 ng/ml, los cuales difieren de los encontrados en el lobo. Lo anterior, ubica a esta especie con un mayor potencial androgénico comparado con especies domésticas, pero destinado exclusivamente a actividades como autodefensa, jerarquía, estrés y otras actividades provocadas por un cautiverio.

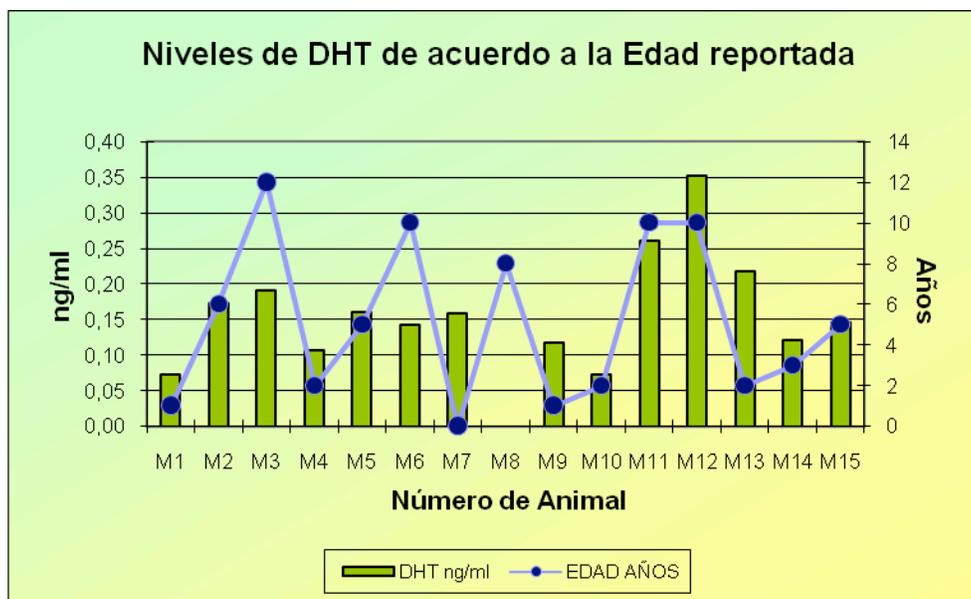
Con respecto al peso y a la edad de los organismos, los resultados sugieren que no determinan los niveles hormonales séricos, como se muestra en las gráficas 3, 4, 5 y 6; y como lo demuestran los coeficientes de correlación obtenidos entre las variables concentraciones de DHT y T vs edad (0.43, 0.14 respectivamente) y la correlación entre las concentraciones de estas mismas hormonas con respecto al peso (0.28, 0.35 respectivamente).



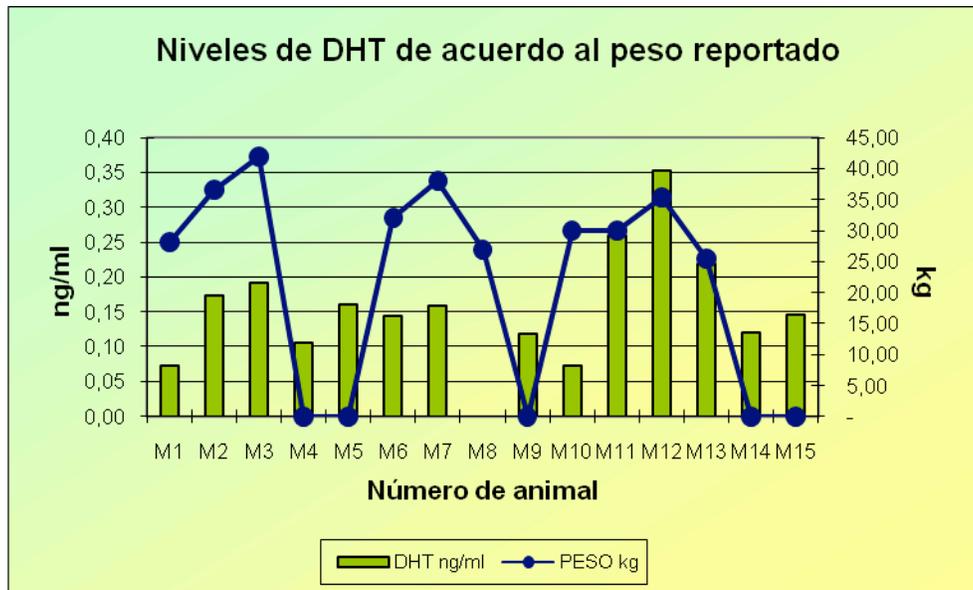
Gráfica 3. Niveles de Testosterona de acuerdo con la Edad reportada.



Gráfica 4. Niveles de Testosterona de acuerdo con el peso reportado.



Gráfica 5. Niveles de DHT de acuerdo a la Edad reportada.



Gráfica 6. Niveles de DHT de acuerdo con peso reportado.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron valores promedio en los lobos mexicanos para la principal hormona masculina y su metabolito activo principal en la época no reproductiva. Estos datos están por encima de los valores reportados en perros domésticos adultos.

Los niveles séricos de los andrógenos DHT y T, de los organismos en cautiverio, no están determinados, no por la edad, ni por el peso.

Las concentraciones de DHT presentadas, no favorecen la reproducción en cautiverio durante el periodo de julio a enero.

Las condiciones de cautiverio en las que se encuentra el lobo gris mexicano, inhiben la actividad reproductiva.

PERSPECTIVAS

Para que la preservación de las especies en peligro de extinción, y en particular para el lobo gris mexicano, caso que nos ocupa en el presente estudio, es necesario realizar labores de sensibilización, concientización e involucramiento de cada uno de los actores. Esto, primordialmente en el ámbito rural con ganaderos, propietarios de la tierra y miembros de clubes de caza así como con los organizadores cinegéticos. Hasta el momento, la difusión de los programas de conservación y reintroducción, no han tenido gran impacto, ya que se necesita que, además de la participación de todo el público en general, las instituciones académicas tienen una tarea ardua pues deben contribuir a difundir los conocimientos científicos y establecer las rutas críticas necesarias para la formación, preparación y capacitación de científicos, técnicos y manejadores de fauna que se requieren para el futuro.

Como continuación de este estudio, se plantea incrementar el número de muestreos para poder determinar los valores normales de hormonas masculinas por edad, grado preponderancia en la manada y época del año.

Diversificar las hormonas cuantificadas, por ejemplo

Asimismo, podrían empezarse a prospectar la fertilización in vitro de ovocitos con espermatozoides de lobo mexicano con el fin de producir embriones in vitro y transplantarlos en hembras de perros, esto, con el fin de incrementar la producción de lobos.

Otros estudios con las hembras deberán hacerse para favorecer la hiperovulación y obtención de ovocitos, sobre todo de las hembras secundarias de la manada.

LITERATURA CITADA

1. Alvarado, A. (2004). El lobo. Algo de su historia, biología y ecología. Correo del maestro Num. 99 Agosto 2004.
<http://www.correodelmaestro.com/anteriores/2004/agosto/2anteaula99.htm>
2. Asa, C. S.; Seal, U. S.; Letellier, M.; Plotka, E. D.; and Peterson, E. K. (1987). Pinealectomy or superior cervical ganglionectomy do not alter reproduction in the wolf (*Canis lupus*). Biol. Reprod. 37(1):14-21.
3. Asa, C. S.; Mech, L. D.; Deal, U. S.; and Plotka, E. D. (1990) The influence of social and endocrine factors on urine-marking by captive wolves (*Canis lupus*). Horm. and Behav. 24:497-509.
4. Asa, C. S.; and Valdespino, C. (1998). Canid reproductive biology: an integration of proximate mechanisms and ultimate causes. Amer. Zool 38:251-259.
5. Avise, J. (1994) Molecular markers history and evolution 2nd. Edic. Chapman and Hall, New York.
6. Bernal, J. F.; and Packard, J. M. (1997). Differences in winter activity, courtship, and social behavior of two captive family groups of Mexican wolves (*Canis lupus baileyi*). Zoo Biol. 16:435-443.
7. Dewey, T. and Smith, J. (2002). *Canis lupus* (gray wolf).
http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Canis_lupus.html
8. Gual-Sill, F. (1995) Contención química de mamíferos silvestres (Protocolo de inmovilización), UNAM, 1-20 p.

9. Hradecký, P. (1985). Possible pheromonal regulation of reproduction in wild carnivores. *J. Chem. Ecol.* 11(2):241-250.
10. Hedrick, P. W., P. S. Miller, E. Geffen and R. Wayne. 1997. Genetic Evaluation of three captive mexican wolf lineages. *Zoo Biology* 16:47-69.
11. INE/SEMARNAP. (2000). Proyecto de recuperación de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). Primera Edición. Instituto Nacional de Ecología. México D. F.
12. López-Islas G. 2002. Reproducción y manejo del lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). En: Reproducción y Manejo de Fauna Silvestre II, Olivera L. J. y Jaramillo J. T. Editores, UAM. En prensa.
13. Matamoros, R.; Gómez, C., y Andaur, M. (2002). Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. *Arch. Med. Vet.* V. 34(2).
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200003&script=sci_arttext
14. Medjo, D. C.; and Mech, L. D. (1976). Reproductive activity in nine- and ten-month-old wolves. *J. Mamm.* 57(2):406-408.
15. Mech, L. D.; and Seal, U. S. (1987). Premature reproductive activity in wild wolves. *J. Mamm.* 68(4):871-873.
16. Moctezuma O., O.; Naturalia A. C.; Gallo, J. P.; CIAD A. C. and Servín, J. (2004). ¿Podrá volver el lobo mexicano? <http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/lobo.pdf>
17. Naturalia: Comité para la conservación de especies silvestres A. C. (2002).
<http://www.naturalia.org.mx/educacionlobo.html>
18. Packard, J. M.; Deal, U. S.; Mech, L. D.; and Plotka, E. D. (1985). Causes of reproductive failure in two family groups of wolves (*Canis lupus*). *Z. Tierpsychol.* 68:24-40.

19. Parsons, D. R. (1997). Recovery of Mexican wolf in the United States: A progress report. En Parra-S., I. E., Albar-R., M. P. and Barrera-G., C. (eds.) Memorias de los Estados Fronterizos México/E. U. A. sobre Recreación, Áreas Protegidas y Vida Silvestre. Febrero26-marzo1. Hermosillo, Sonora México.
20. Red escolar (2002). Lobo gris mexicano.
http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/publicaciones/publi_biosfera/fauna/lobo-gris-mex/lobogris-mex.htm
21. Rivera R., J. A.; Esquivel L., C.; and López I., G. (1994). Utilización de la citología vaginal exfoliativa para el seguimiento del ciclo estral del lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) Parte I. En López I., G.; Manrique N., B.; Reyna M., M. (eds). Primer simposium Nacional sobre el Lobo Gris Mexicano. INE/SEDESOL, DDF, UNAM.
22. Rivera R., J. A.; (2003). Efecto del estrés sobre la calidad del semen del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Tesis para obtener el Grado de Maestro en Ciencias. UNAM. pp 98.
23. SEMARNAT (2002). Norma Oficial Mexicana Nom-059-SEMARNAT-2001 Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión o cambio – lista de especies en peligro. Diario Oficial. 2ª. Sección. Publicado el Miércoles 6 de marzo de 2002.
24. Seal, U. S.; Plotka, E. D.; Packard, J. M.; and Mech, L. D. (1979). Endocrine correlates of reproduction in the wolf. I. Serum progesterone, estradiol, and LH during the estrous cycle. Biol. Reprod. 21:1057-1066.

25. Servín, J. (1994). La conducta social del lobo mexicano y algunas implicaciones ecológicas. En López I., G.; Manrique N., B.; Reyna M., M. (eds). Primer simposium Nacional sobre el Lobo Gris Mexicano. INE/SEDESOL, DDF, UNAM. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/lobo/7.html>
26. Servín, J. (1994). El Etograma del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). En López I., G.; Manrique N., B.; Reyna M., M. (eds). Primer simposium Nacional sobre el Lobo Gris Mexicano. INE/SEDESOL, DDF, UNAM. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/lobo/8.html>
27. Soto, M. A.; Salame M., A.; Ramírez P., J.; Yáñez, L.; and Armella, M. A. (2004). Valoración de hormonas esteroides en heces de una pareja de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Act. Zool. Mex. (n. s.) 20(2):187-196.
28. Treviño F., J. C. (1994). El lobo mexicano...su futuro incierto. En López I., G.; Manrique N., B.; Reyna M., M. (eds). Primer simposium Nacional sobre el Lobo Gris Mexicano. INE/SEDESOL, DDF, UNAM. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/lobo/12.html>

APÉNDICE

Método de medición para testosterona (T)

La determinación es por radioinmunoensayo (RIA) en fase sólida y no requiere extracción de testosterona desde suero. Los tubos son de color amarillo.

El estuche comercial es para uso *in vitro*, su valoración ayuda en el diagnóstico y manejo de condiciones que involucran exceso o deficiencia de esta hormona.

El procedimiento para su determinación se basa en que tiene el anticuerpo específico contra testosterona inmovilizado en la pared de tubos de polipropileno. El trazador o testosterona radiomarcada con isótopo¹²⁵ I (yodo), compete con la testosterona de la muestra del paciente por los sitios del anticuerpo y esto es a un tiempo fijo. No se requiere cromatografía, la incubación es por tres horas y no necesita centrifugarse pues el tubo se decanta para separar las moléculas unidas al anticuerpo, de las que se encuentran libres.

El conteo se efectúa en el tubo con un contador para detección de radiación gamma. La cantidad de testosterona presente en la muestra del paciente se determina al relacionarla contra una curva estándar de: 0, 20, 100, 400, 800 y 1,600 ng/dL de testosterona total.

Sensibilidad. El ensayo puede detectar la cantidad mínima de 4.0 ng/dL de testosterona total.

Especificidad: El antisuero para testosterona total es altamente específico; el porcentaje de la reactividad cruzada se calculó con base en el peso y una unión

aproximada del 50%, con esteroides como androstenediona (0.5%) y 5 α -dihidrotestosterona (2.8%).

Coat-A-Count Total Testosterone RIA. Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, CA.

Método de medición para dihidrotestosterona

La determinación es por radioinmunoanálisis (RIA). La DHT marcada, contiene menos de 5 microCuries (85 kBq), utiliza un procedimiento para oxidación con permanganato de potasio y posterior extracción, que permite reiterar lo más que se puede de testosterona, además se encuentra acoplado a un inmunoensayo relativamente específico para DHT.

Cada uno de los tubos de plástico con color amarillo tiene en su pared inmovilizada la inmunoglobulina policlonal anti-DHT de conejo. El estuche contiene material base para mediciones cuantitativas de esa molécula en suero o plasma, pero, para el procedimiento de extracción no trae los solventes orgánicos necesarios (de n-hexano y de etanol, ambos deben tener grado para cromatografía líquida de alta resolución, su uso es en proporción 98:2) lo que aumenta el costo de la prueba. La capa orgánica se separa de la acuosa por centrifugación a 1500 x g durante 15 minutos a 2-8 ° C. La evaporación de 2.5 mL de la capa superior, es facilitada con gas nitrógeno. La alícuota una vez evaporada, se reconstituye posteriormente con el estándar A.

Se mide a un tiempo fijo, existe competencia entre el antígeno radiactivo y no radiactivo por los sitios de unión del anticuerpo. La cantidad de DHT marcada con el

isótopo¹²⁵ I (yodo), unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de la DHT presente. La separación de antígeno libre del anticuerpo unido es rápida pues los líquidos se decantan o aspiran desde los tubos que lo tienen adherido.

Se trabaja con estándares comerciales reconocidos únicamente en agua desionizada (7 viales), concentraciones que van de: 25, 50, 100, 200, 500, 1000 y 2500 pg/mL en un sistema amortiguador de albúmina con azida de sodio como conservador. El vial que contiene 0 pg/mL DHT o “estándar A” o “diluyente de muestras” solamente tiene el sistema amortiguador con el conservador. También se adquieren controles para niveles I y II en concentraciones baja (cat. 9651) y alta (cat. 9652) respectivamente, de suero humano. Éstos primero se constituyen con agua desionizada y después se llevan a extracción como si fueran muestras de pacientes.

Sensibilidad. El ensayo puede detectar la cantidad mínima de 4 pg/mL (16.0 pmol/L) de dihidrotestosterona.

Especificidad: El porcentaje de la reactividad cruzada del antisuero para DHT con esteroides como androstenediona es 1.90% y después de la extracción con testosterona 0.02%.

Dihydrotestosterone. RIA. Diagnostic Systems Laboratories, Inc. USA.

La presente tesis titulada: Niveles Séricos de Hormonas Gonadales en el Lobo Gris Mexicano (*Canis lupus baileyi*) en la Época no Reproductiva, realizada por la alumna Gladys Vargas Samaniego, ha sido aprobada y aceptada por el Jurado como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

JURADO

PRESIDENTE DRA. REYNA CARMEN FIERRO PASTRANA

SECRETARIO DR. HUMBERTO GONZÁLEZ MÁRQUEZ

VOCAL DRA. IRMA JIMÉNEZ MORALES

VOCAL DR. GUILLERMO BLANCAS ARROYO

México, D. F., a 16 de Noviembre de 2009.