

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
UNIDAD IZTAPALAPA**



Casa abierta al tiempo

**“EVALUACIÓN DE INDICADORES DEL METABOLISMO
INTERMEDIARIO EN DOS ESPECIES DE *Peromyscus* QUE
COHABITAN EN UN BOSQUE TEMPLADO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

Jesús Vergara Huerta

Director de tesis: Dr. José Ramírez Pulido

Asesor: Dr. P. Arturo Salame Méndez

Asesor: Dr. Fausto R. Méndez de la Cruz

Diciembre 2009

“La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Excelencia del CONACYT”

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad
Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Jesús Vergara Huerta

El día 14 de diciembre del 2009

Comité Tutorial

Tutor: Dr. José Ramírez Pulido

Asesor: Dr. P. Arturo Salame Méndez

Asesor: Dr. Fausto R. Méndez de la Cruz

Sinodal: Dra. A. Alondra Castro Campillo

Sinodal: Dr. Isaías H. Salgado Ugarte

A mis PADRES;
cuya vida ejemplar los eterniza.

AGRADECIMIENTOS.

Si bien este documento es resultado del esfuerzo personal, quiero brindar mi más sentido agradecimiento a todos aquellos que me apoyaron durante estos dos años y sin los cuales el desarrollo de esta tesis no hubiera sido posible:

A la UAM-I, por ser el espacio en donde encontré los medios adecuados para crecer como profesional y como persona.

Al CONACYT, por el apoyo económico otorgado para la realización de este proyecto.

A la Dra. Alondra Castro Campillo y al Dr. Arturo Salame Méndez; por el apoyo que me han brindado desde el momento en que los conocí. Valoro en mucho lo aprendido gracias a su experiencia en materia académica, pero sobre todo admiro su calidad humana y estaré eternamente agradecido por su sincera amistad.

Al Dr. José Ramírez Pulido, por la confianza que me demostró al participar en la dirección de la tesis, así como por los valiosos consejos que recibo constantemente de su parte.

Al Dr. Fausto Méndez de la Cruz, por la asesoría recibida durante el desarrollo del trabajo y por ayudarme con sus comentarios a mejorar significativamente la calidad de este escrito.

Al Dr. Isaías Salgado Ugarte, por su apoyo en los análisis estadísticos, así como por aceptar participar como sinodal y enriquecer este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio y protegidos por la Salame & Castro Foundation; Mireya Valdez, Fernando Huerta, Jonathan Escobar, Yasser López, Moisés Andrade y Leo Zamora. Han sido grandes amigos y buenos compañeros de trabajo, con ustedes pasé los mejores momentos académicos, aquellos que no tienen nada que ver con el aprendizaje. También agradezco a mis compañeras y discípulas de la Dra.

Alondra; Xazmín, Sayonara, Marisol y Roxana, por el camino transitado y el que falta por recorrer.

A Juan Patiño R. por su importante labor como técnico taxidermista y por los buenos momentos que nos legó en el trabajo de campo. Le deseo lo mejor en su retiro.

A Noé, Luis y Gustavo; por su compañía y por las buenas conversaciones que me regalaron durante estos dos años.

A todos los miembros de mi amada familia, en especial a mi “Mamá de repuesto” y a mis cuatro hermanos; Maty, Martín, Javier y Luis Mario. A Maritere, Andrea, Fernanda, Daniel y Martín; por la inmensa felicidad de tenerlos en mi vida.

Por último, debo agradecer a mi madre, Matilde Huerta Brillas, que supo conducirnos con el ejemplo y nos mostró, día tras día, el camino a la inmortalidad. Habrá que emprenderlo con humildad y con la esperanza de llegar a ella.

RESUMEN

Con base en la concentración de indicadores del metabolismo intermediario (IMI), tanto en plasma como en excretas, se analizó el comportamiento metabólico de dos especies de *Peromyscus*, capturadas en los Parques Nacionales Cumbres del Ajusco (PNCA) y Desierto de los Leones (PNDL), a partir de mayo del 2008 y hasta abril del 2009. Tanto *P. melanotis* como *P. difficilis*, mostraron en el plasma incrementos significativos en la segunda mitad del año (otoño-invierno) de glucosa, triacilglicéridos y colesterol, IMI íntimamente relacionados con la captación y uso potencial de energía. Por el contrario, la urea que es un indicador del metabolismo proteico, presentó niveles superiores en la primavera y el verano. Este comportamiento es consistente en las poblaciones analizadas, sin importar el sexo de los individuos, sin embargo se encontraron diferencias significativas en hembras lactantes y no lactantes dentro de las dos especies. Aún cuando el comportamiento sigue un patrón similar, existen diferencias interespecíficas, producto de la variación en tamaño entre *P. melanotis* y *P. difficilis*. La temperatura es el factor principal en la regulación de la concentración de IMI en ambas especies, ya que debido a su tamaño sus requerimientos energéticos aumentan significativamente en la época más fría. Es probable que por esta razón los eventos reproductores y la abundancia de las poblaciones estudiadas decaigan hacia el final del año. Los datos encontrados en las excretas, por lo general siguen una tendencia inversa a la concentración plasmática, excepto en la urea. El hecho de encontrar correlaciones significativas entre las concentraciones plasmáticas y las fecales, permite proponer en un futuro estudios de carácter no-invasivo con estas y otras especies de ratones de campo. Los resultados de la tesis subrayan la importancia del estudio ecofisiológico de poblaciones silvestre de pequeños mamíferos en condiciones de libertad.

ABSTRACT

Based on the concentration of intermediate metabolism indicators (IMI) both in plasma and faeces, we examined the metabolic behavior of two species of *Peromyscus*, captured in the National Parks Cumbres del Ajusco (PNCA) and Desierto de los Leones (PNDL), from May 2008 until April 2009. Both *P. melanotis* and *P. difficilis* showed significant increases in plasma during the second half of the year (autumn-winter) of glucose, triglyceride and cholesterol, IMI closely related to acquiring and using energy potential. On the contrary, the urea an indicator of protein metabolism, presented higher levels in spring and summer. This behavior is consistent at each population, regardless of the sex, but significant differences were found in non-lactating and lactating females in both species. Even though the behavior follows a similar pattern, interspecific differences exist as a result of the variation in size between *P. melanotis* and *P. difficilis*. Temperature is the main factor in regulating the concentration of IMI in both species, as due to their size their energy requirements increase significantly in the coldest time. It is therefore likely that breeding events and the abundance of the populations studied dwindle towards the end of the year. The data found in the faeces, generally follow an inverse trend to the plasma concentrations, except for urea. The significant correlations between plasma and faecal concentrations makes possible to propose future non-invasive studies with these and other species of voles. The results of the thesis emphasize the importance of ecophysiological study of wild populations of small mammals in free-life conditions.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.	1
II. ANTECEDENTES.	3
2.1. GÉNERO <i>Peromyscus</i>	3
2.2. METABOLISMO INTERMEDIARIO.	7
III. JUSTIFICACIÓN.	13
3.1. JUSTIFICACIÓN GENERAL DEL PROYECTO	13
3.2. INDICADORES DEL METABOLISMO INTERMEDIARIO (IMI).	15
3.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS IMI EN PLASMA Y EN EXCRETAS.	15
3.4. LAS ESPECIES DE <i>Peromyscus</i> COMO MODELOS DE ESTUDIO.	16
IV. OBJETIVOS.	16
4.1. OBJETIVO GENERAL.	16
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES.	17
V. HIPÓTESIS.	17
VI. ÁREAS DE ESTUDIO.	18
6.1. PARQUE NACIONAL CUMBRES DEL AJUSCO.	18
6.2. PARQUE NACIONAL DESIERTO DE LOS LEONES.	20
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.	20
7.1. TRABAJO DE CAMPO.	20
7.1.1. Recolección de ejemplares.	20
7.1.2. Medición de variables ambientales.	22
7.2. TRABAJO DE LABORATORIO Y DE GABINETE.	22
7.2.1. Preparación de los ejemplares.	22
7.2.2. Recolección de excretas.	22

7.2.3. Recolección de sangre.	23
7.2.4. Cuantificación de metabolitos.	23
7.2.5. Análisis estadísticos.	24
VIII. RESULTADOS.	26
8.1. DATOS DE RECOLECTA.	26
8.2. MARCO DE REFERENCIA CON RATONES CD1.	27
8.2.1. Agrupación en diferentes categorías de edad.	28
8.2.2. Cuantificación de IMI.	29
8.3. <i>Peromyscus difficilis</i>	30
8.3.1. Comportamiento mensual de IMI.	30
8.3.2. Comportamiento estacional de IMI.	32
8.3.3. Comparación intersexual en <i>P. difficilis</i>	33
8.3.4. Reproducción en machos.	33
8.3.5. Reproducción en hembras.	35
8.4. <i>Peromyscus melanotis</i>	37
8.4.1. Comparación entre localidades.	37
8.4.2. Comportamiento mensual de IMI.	38
8.4.3. Comportamiento estacional de IMI.	39
8.4.4. Comparación intersexual en <i>P. melanotis</i>	40
8.4.5. Reproducción en machos.	41
8.4.6. Reproducción en hembras.	42
8.5. DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS.	43
8.5.1. Patrones generales.	43
8.5.2. Comportamiento estacional.	44

8.6. VARIACIÓN AMBIENTAL Y METABOLISMO INTERMEDIARIO.	46
8.7. CORRELACIONES ENTRE IMI PLASMÁTICOS E IMI FECALES.	47
IX. DISCUSIÓN.....	50
9.1. PATRONES GENERALES.	50
9.2. RELACIONES INTERESPECÍFICAS.....	57
9.3. FACTORES AMBIENTALES.	58
9.4. IMI EN EXCRETAS.....	60
X. CONCLUSIONES.....	61
XI. RECOMENDACIONES FINALES.....	63
XII. CITAS LITERARIAS.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa en donde se muestra la ubicación de las localidades de estudio, ubicadas en el Parque Nacional Desierto de los Leones (A) y el Parque Nacional Cumbres del Ajusco (B). Imágenes modificadas del INEGI (2009).....	19
Figura 2. Cluster de 50 ratones CD1, considerando el peso individual, el volumen y el peso de los testículos.....	28
Figura 3. Perfiles de la concentración en plasma de cuatro Indicadores del Metabolismo Intermediario (IMI) en diferentes categorías de edad (CE); juveniles (barras blancas), subadultos (barras grises) y adultos (barras negras).....	30
Figura 4. Comportamiento mensual de la concentración en plasma de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en <i>P. difficilis</i>	31
Figura 5. Comportamiento mensual de la concentración en excretas de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en <i>P. difficilis</i>	31
Figura 6. Comportamiento estacional de la concentración en plasma (A) y excretas (B) de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en <i>P. difficilis</i>	32
Figura 7. Concentración de diferentes IMI en machos y hembras de <i>P. difficilis</i> ; glucosa (columnas negras), trigliceridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises). Los resultados están expresados en escala logarítmica.	33
Figura 8. Comportamiento estacional del peso total (línea punteada) y el volumen testicular (línea continua) en machos de <i>P. difficilis</i>	35
Figura 9. Concentraciones de IMI (glucosa: columnas negras; trigliceridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en hembras de <i>P. difficilis</i> en diferentes condiciones asociadas a la reproducción (NLAC = no lactantes, LAC = lactantes, NGES = no gestantes, GES = gestantes). P = concentración de los IMI en plasma; E = concentración de los IMI en excretas.....	36

Figura 10. Concentración plasmática de IMI (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en dos poblaciones (PNCA = Ajusco; PNDL = Desierto de los Leones) de <i>P. melanotis</i>	37
Figura 11. Comportamiento mensual de la concentración en plasma de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○), en <i>P. melanotis</i>	38
Figura 12. Comportamiento mensual de la concentración en excretas de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○), en <i>P. melanotis</i>	39
Figura 13. Comportamiento estacional de la concentración en plasma (A) y excretas (B) de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en <i>P. melanotis</i>	40
Figura 14. Concentración de diferentes IMI en machos y hembras de <i>P. melanotis</i> ; glucosa (columnas negras), triglicéridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises). Los resultados están expresados en escala logarítmica.....	40
Figura 15. Comportamiento estacional del peso total (línea punteada) y el volumen testicular (línea continua) en machos de <i>P. melanotis</i>	42
Figura 16. Concentración plasmática de IMI (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en hembras de <i>P. melanotis</i> en diferentes condiciones asociadas a la reproducción (NLAC = no lactantes, LAC = lactantes, NGES = no gestantes, GES = gestantes). P = concentración de los IMI en plasma; E = concentración de los IMI en excretas.....	43
Figura 17. Comparación entre las dos especies de <i>Peromyscus</i> respecto a las concentraciones en plasma y excreta de diferentes IMI; glucosa (columnas negras), triglicéridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises).....	44
Figura 18. Comparación estacional en la concentración en plasma (A) y excretas (B) de IMI en las dos especies de <i>Peromyscus</i> que habitan un bosque templado (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises).	45

Figura 19. Comportamiento estacional de diferentes variables ambientales en las localidades de estudio, desde mayo del 2008 hasta abril del 2009. T.O. (0C): temperatura registrada por la estación meteorológica 007662; T.C. (0C): temperatura registrada en el campo; H.Luz (Hrs.): números de horas luz al día; H.R.O. (%): humedad relativa registrada por la estación 007662; H.R.C. (%): humedad relativa registrada en el campo; ALT (msnm): altitud.....46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Número de individuos capturados y procesados en el laboratorio durante el proyecto; mayo, junio-julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre del 2008; enero, febrero, marzo y abril del 2009.	26
Cuadro 2. Individuos capturados de <i>P. melanotis</i> (<i>Pm</i>) y <i>P. difficilis</i> (<i>Pd</i>) en el Parque Nacional Desierto de los Leones, durante cada una de las salidas del proyecto.	27
Cuadro 3. Esfuerzo y éxito de captura de las dos especie de <i>Peromyscus</i> . Se presentan los datos por salida y en total, exclusivamente en el Parque Nacional Desierto de los Leones.	27
Cuadro 4. Agrupación en base a características morfológicas de 50 machos CD1, en diferentes categorías de edad (juveniles, subadultos y adultos).	29
Cuadro 5. Matriz de correlaciones de Spearman, entre variables ambientales e IMI en <i>P. melanotis</i> . Los indicadores están seguidos por una letra P (plasma) o X (excretas). La nomenclatura de las variables climáticas es la misma que la utilizada en la figura 18. Se muestran las correlaciones significativas entre variables ambientales e IMI *, y entre lo cuantificado en plasma y en excretas**, en cada indicador.	48
Cuadro 6. Matriz de correlaciones de Spearman, entre variables ambientales e IMI en <i>P. difficilis</i> . Los indicadores están seguidos por una letra P (plasma) o X (excretas). La nomenclatura de las variables climáticas es la misma que la utilizada en la figura 18. Se muestran las correlaciones significativas entre variables ambientales e IMI *, y entre lo cuantificado en plasma y en excretas**, en cada indicador.	49

I. INTRODUCCIÓN.

Los ratones de campo, como todas las especies, precisan de aporte alimenticio desde su concepción, para su crecimiento y desarrollo, así como para el mantenimiento de las funciones corporales que les permiten llegar a la madurez y a su eventual reproducción. Estas demandas nutricionales dependen de diversos factores inherentes a la especie (*e. g.*, tasa de crecimiento, edad, longevidad, tamaño corporal, ciclicidad de la actividad reproductiva), así como también de la presión ambiental ejercida por la variabilidad característica del área de distribución (*i. e.* factores como el clima, la fisiografía, el estado de conservación del hábitat), los cuales en su conjunto, explican las diferencias temporales y especie-específicas de la demanda energética entre los pequeños roedores (Garrido *et al.* 2005; Moyes y Shulte 2007).

Esa energía es captada por el roedor a partir de la dieta, la cual independientemente de su composición taxonómica (*e. g.* plantas, artrópodos, hongos), está constituida principalmente por carbohidratos, lípidos y proteínas, biomoléculas que realizan diferentes funciones dentro de su organismo (Nelson y Cox 2005; Raman *et al.* 2005). Así por ejemplo; algunos carbohidratos actúan como moléculas de almacenamiento de energía de consumo a corto plazo (*i. e.*, glucosa), mientras que otros funcionan como componentes estructurales (*i. e.*, quitina). Por su parte, los lípidos pueden funcionar, como biomoléculas estructurales básicas, mientras que la mayoría constituyen un recurso energético de consumo a mediano y largo plazos, (Nelson y Cox 2005). También a los lípidos, pertenece el amplio grupo de los compuestos esteroides (*e. g.*, colesterol, andrógenos, progestágenos, estrógenos, gluco y mineralocorticoides), cuyo papel es muy importante en la reproducción (*v. gr.*, a través de su función como hormonas esteroides) (Fahy *et al.*, 2005). Por último, las proteínas pueden catalizar reacciones químicas del metabolismo, otras tienen funciones

estructurales o mecánicas y otras más intervienen en la comunicación celular, la respuesta inmune, la adhesión celular y el ciclo celular (Nelson y Cox 2005).

La relación entre los tres grupos de biomoléculas se establece dentro del metabolismo intermediario (*e. g.* conjunto de reacciones químicas implicadas en la biotransformación de las moléculas de los nutrientes), responsable, entre otras cosas, de la nutrición, el crecimiento, la desintoxicación del cuerpo y, por ende, de asegurar la sobrevivencia de los individuos hasta su posible reproducción, actividad que determina en buena medida la abundancia y estructura de sus poblaciones (Smith y Smith 2001; Garrido *et al.* 2005). En este sentido, se sabe que la reproducción de estos organismos esta relacionada con la disponibilidad de alimento, la cual a su vez depende en gran medida de condiciones ambientales como el fotoperiodo, la temperatura y la precipitación pluvial (Sadleir 1969; Van-Tienhoven 1983; Bronson 1989). Es decir, si se considera el insumo energético que requiere la reproducción, el costo-inversión que esta supone sólo puede garantizarse durante la estación en la cual queda asegurada la abundancia de recursos alimentarios, especialmente en localidades en donde dicha abundancia es significativamente variable a lo largo del año (*i. e.* variación estacional o por temporada de lluvias). En especies de mamíferos pequeños terrestres esto es particularmente cierto en regiones templadas del Hemisferio Norte en donde, por lo general, sus poblaciones están reproductivamente activas y en crecimiento durante el verano, mientras que se muestran inactivas, en términos reproductores, durante el invierno (Merritt *et al.* 2001).

Este es el caso de dos especies de ratones silvestres, *Peromyscus melanotis* y *P. difficilis*, que cohabitan en un bosque templado ubicado en la Ciudad de México, por lo que resulta interesante conocer como es que las condiciones climáticas propias de cada localidad, así como su diferencia en el tamaño, ya que *P. melanotis* es significativamente

menor a *P. difficilis*, y las actividades asociadas a la reproducción influyen en sus necesidades energéticas (Grodzinski y Wunder 1975; Hill 1983; Peters 1983; Garrido *et al.* 2005); ¿podría ser que los requerimientos de carbohidratos, lípidos y proteínas de estos ratones de campo, muestren un patrón diferencial, de acuerdo con las condiciones climáticas imperantes, el tamaño de cada especie y las actividades asociadas con su rol sexual?. Con el objeto de responder a estas preguntas, en este trabajo se analizó el comportamiento de algunos indicadores del metabolismo intermediario, de carbohidratos (*i. e.* glucosa), lípidos (*i. e.* triglicéridos y colesterol) y proteínas (*i. e.* urea), contenidos en la sangre y la materia fecal de ejemplares obtenidos en el campo, con el fin de establecer las posibles diferencias estacionales, sexuales e interespecíficas del metabolismo en ambas especies.

II. ANTECEDENTES.

2.1. GÉNERO *Peromyscus*.

Los ratones silvestres son organismos con un papel ecológico muy relevante ya que son dispersores de semillas y micorrizas arbóreas (Forget y Milleron 1991; Mangan y Adler 2002), removedores de suelo, y portadores de enfermedades potencialmente peligrosas para la población humana (Cox 1979), incluso se pueden considerar como “arquitectos” de sus hábitats ya que su actividad trófica, tanto de forma espacial como temporal, define en gran medida la estructura vegetal del área en donde se encuentran. Entre los ratones de campo podemos encontrar a los del género *Peromyscus*, uno de los más representativos de Norteamérica y el más intensamente estudiado (Kirkland y Layne 1989). Dependiendo de la clasificación utilizada, el género incluye más de 50 especies y 200 subespecies, las cuales

pueden encontrarse en ambientes muy variados, desde el Atlántico hasta el Pacífico, y desde Canadá hasta Panamá, presentando un amplio intervalo de variación morfológica, etológica y fisiológica. Esto permite utilizar a las especies del género, para el estudio de cuestiones tan variadas como la biología de poblaciones, ecología de comunidades, fisiología adaptativa, ecología energética y biología evolutiva, entre otras (Kirkland y Layne 1989).

Peromyscus melanotis es una especie monotípica que se distribuye generalmente por arriba de los 2500 msnm, en el centro de México y la Sierra Madre Occidental y en una estrecha franja que llega hasta el norte de Chihuahua; además, existe una pequeña población alopátrida en Arizona. En función de su distribución, con frecuencia se le considera endémica de México (Ramírez-Pulido *et al.* 2001). Esta especie se caracteriza por un mechón de pelo oscuro en la base anterior de la oreja, lo que le da su nombre científico. Su pelaje de la región dorsal es pardo ocráceo, entremezclado con gris oscuro, especialmente en la región medio-dorsal, con una banda lateral muy conspicua. Estas características permiten distinguirla de *P. maniculatus*, una especie morfológicamente muy similar, que por lo general se distribuye en altitudes inferiores con respecto a *P. melanotis*. Se alimenta de semillas de las plantas herbáceas estacionales y de pastos, en donde habita, especialmente entre zacatonales y troncos huecos de bosques de coníferas. Es un ratón de tamaño pequeño entre los miembros del género, cuyo tamaño total va desde los 132 a los 175 mm, con una cola de 58 a 81 mm (Hall y Nelson 1959) y cuyo peso oscila entre los 17 a los 28 g (Castro-Campillo *et al.* 2005).

Al contrario que *Peromyscus melanotis*, *P. difficilis* es una especie politípica, endémica de México, que puede ser encontrada desde los 310 hasta los 3180 msnm (Ramírez-Pulido *et al.* 2001). Se distribuye desde el oeste de Chihuahua y sureste de

Coahuila, hacia el sur hasta el centro de Oaxaca (Carleton 1987). La coloración dorsal puede presentar las siguientes variantes: pardo grisáceo, pardo amarillento y pardo ocráceo sobre un fondo gris. El vientre es blanco a negruzco impregnado con plata. La cola es bicolor y, a diferencia de *P. melanotis*, es normalmente mayor que la cabeza y el cuerpo. Las orejas son grandes, pero al secarlas son más pequeñas que las patas traseras, el rostro es alargado y las bulas auditivas son muy grandes (Hall y Kelson 1959). Es una especie herbívora cuya dieta se compone principalmente de semillas y materia vegetal, como tallos y raíces. Se localizan en grietas de las rocas, en tocones, troncos y huecos de los árboles. Es una especie de tamaño medio dentro del género, que oscila entre los 180 y 260 mm de largo total, con una cola de 91 a 145 mm y cuyo peso se encuentra entre los 24 y los 32 g (Hall y Kelson 1959).

Ambas especies, que pertenecen a clados diferentes dentro del género (Carleton, 1989; Bradley *et al.* 2007) muestran una amplia correspondencia en sus áreas de distribución (Carleton 1989; Hall 1981); esta concordancia y el posible uso de las mismas fuentes de alimento (*i. e.* semillas y otras partes de las plantas), podría suponer, por ejemplo, que exista diferenciación en los tiempos de reproducción (Smith y Smith 2001). En este sentido, se tiene evidencia que ambas especies muestran patrones anuales reproductores similares, pero asincrónicos, ya que las características fisiológicas (*i. e.* volumen testicular, espermatogénesis) y endocrinas (producción y contenido de hormonas esteroides sexuales -HES-) de estas poblaciones muestran que, aún cuando ambas se reproducen durante todo el año, *P. difficilis* lo hace principalmente en la primavera, mientras que *P. melanotis* prefiere el verano para desplegar sus conductas reproductoras (Salame-Méndez *et al.* 2004, 2005).

Las diferencias en tamaño de ambas especies permite suponer que también debería existir un consumo diferencial de los recursos alimentarios, ya que en teoría sus tasas metabólicas deben diferir significativamente, siendo las necesidades energéticas y la energía consumida, en proporción al tamaño corporal, superiores en *P. melanotis* con respecto a *P. difficilis* (Peters 1983). Además dicha variación en la demanda energética podría explicar porque la abundancia de sus poblaciones es tan cambiante, como se ha visto a lo largo de varios años de estudio (Castro-Campillo *et al.* 2008). Por lo tanto, la selección del alimento es un aspecto fundamental en el estudio de estos ratones de campo, ya que les permite captar la energía necesaria para enfrentar las diferentes condiciones ambientales de su hábitat. Sin embargo, los estudios sobre la dieta, preferencias y hábitos alimentarios en condiciones de vida libre, son complejos, ya que la identificación de los ítems tróficos que componen la dieta de estos organismos es bastante compleja (*i. e.* órganos de plantas, hongos y animales, así como su grupo taxonómico), considerando lo degradados que se encuentran tanto en el estómago, como en los intestinos y las heces (*e. g.* que generalmente es lo que se analiza en este tipo de estudios), y aún cuando se llegue a la correcta identificación taxonómica, no siempre se dispone de la información bromatológica que permita conocer la calidad de dicha dieta (*i. e.* el aporte nutricional que representan los recursos alimentarios) (Silva 2005).

Ya que el metabolismo intermediario está ligado con la dinámica alimentaria, es decir con aquellas estrategias que permiten a los organismos cubrir sus requerimiento energéticos a partir de la captación de alimento, y además se encuentra asociado fundamentalmente al catabolismo (*i. e.* degradación) y al anabolismo (*i. e.* síntesis) de los monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos y compuestos relacionados (Cardellá-Hernández 2007), podemos concebirlo como otra de las dimensiones del nicho de una

especie, que al ser cuantificada puede ser un método eficaz para explicar desde otra perspectiva los procesos que definen las interacciones de la especie con su entorno, ya que es posible estudiar a los organismos en vida libre mediante la comparación no solo interespecífica, sino también entre sexos de la misma especie, de forma sistemática y estandarizada.

2.2. METABOLISMO INTERMEDIARIO.

El estudio del metabolismo en pequeños roedores, se ha realizado mediante diferentes técnicas para diversos fines; la obtención de tasas metabólicas basales (Hill 1983), ha mostrado variación entre especies, sexos y categorías de edad; mientras que el marcaje radioisotópico (Grenot y Buscarlet 1988) ha permitido hacer el seguimiento de nutrientes. Así mismo existen algunas técnicas para estimar el metabolismo de los ratones silvestres en el campo; por ejemplo, tasas de excreción de radioisótopos, eliminación del deuterio - $D_2^{18}O$ - y la telebiometría del ritmo cardiaco (Grodzinski y Wunder 1975), sin embargo, todas estas técnicas tienen elementos en contra; Gessaman (1973) indica que la técnica más prometedora es el método del $D_2^{18}O$, sin embargo es muy cara, complicada y solo genera promedios de la tasa metabólica a largo plazo; por su parte, Mullen (1973) indica que el costo de los isótopos es demasiado elevado cuando se trabaja con animales que pesan más de 1 kg.

En el caso particular del género *Peromyscus*, se tienen bien estudiadas a ciertas poblaciones ubicadas en las regiones norteñas de su distribución (*i. e.* E.U.A. y Canadá), específicamente a *P. maniculatus* y *P. leucopus*, dichos estudios incluyen trabajos referentes al metabolismo y las necesidades energéticas de las especies.

Fleharty *et al.* (1973), analizaron la composición corporal, contenido energético, y ciclos lipídicos, de cuatro especies de ratones (*Peromyscus maniculatus*, *Reithrodontomys megalotis*, *Sigmodon hispidus* y *Microtus ochrogaster*) ubicados en el condado de Ellis, en Kansas E.U.A., encontrando diferentes ciclos lipídicos, considerados como una medida directa del contenido energético. En este trabajo, *P. maniculatus*, presentó necesidades energéticas elevadas en invierno en comparación con las otras épocas del año. Otros trabajos llevados a cabo en regiones del norte (Sealander 1951; Hayward 1965; Sawicka-Kapusta 1968; Lynch 1973), climáticamente extremosas y con bajas temperaturas en el invierno, muestran un comportamiento similar en el contenido de lípidos; por lo cual se sugiere que la acumulación de grasa en estos meses puede ser una barrera de aislamiento al frío y una fuente de energía metabólica.

Sin embargo, la información recabada en zonas del sur con climas templados y microhábitats más estables, exhiben patrones distintos; mostrando, en las poblaciones de pequeños roedores estudiadas, decrementos significativos de grasas en los meses de reproducción (Caldwell y Connell 1968; Fehrenbacher y Fleharty 1976).

Por ejemplo, Judd *et al.* (1978) utilizaron los ciclos lipídicos para relacionar la demanda energética con algunos parámetros reproductores en una población de *P. leucopus*, ubicada en el Valle de Río Grande, Texas (E.U.A.). Los datos reflejaron diferencias energéticas a lo largo del año en ambos sexos de la especie, los cuales se comportaban de manera similar entre ellos, presentando niveles bajos de grasas en la época reproductora.

Otra forma de abordar el problema de la demanda energética de estos organismos en vida libre es la propuesta por Derting y Hornung (2003), los cuales analizaron los cambios en la masa y el largo de los órganos de procesamiento central (*i. e.* estomago y órganos

intestinales), que se daban de forma estacional en una población de *P. leucopus* ubicada al oeste de Kentucky E.U.A., para relacionarlos con la variación en las condiciones ambientales y la demanda energética. Su estudio, en donde los inviernos moderados y veranos húmedos caracterizan el área de estudio, permitió constatar diferencias limitadas en el tamaño y función de órganos de procesamiento central a lo largo del año.

En contraste, es demasiado escasa la información que se tiene sobre estos tópicos de las poblaciones ubicadas en el territorio mexicano. A pesar de esto existen trabajos valiosos en este sentido, como el realizado por Vázquez *et al.* (2004), donde encontraron variaciones en la dieta de *Peromyscus aztecus* y *Reithrodontomys fulvescens*, con base en lo encontrado en las excretas y el estómago, así como recolectando plantas que potencialmente fueran parte de la alimentación de estos organismos, a las cuales se les cuantificó las proteínas, lípidos y carbohidratos solubles.

Si bien estos estudios permiten una mejor comprensión en la relación entre la alimentación y las fluctuaciones de la demanda energética, en diferentes condiciones ambientales y estados reproductores, no generan información sobre el metabolismo de los organismos en condiciones de vida libre. En este sentido, cabe mencionar el trabajo desarrollado por Valdez-Gómez (2009), donde, además de estudiar el comportamiento sexual de *Peromyscus melanocarpus* a través del análisis de diferentes hormonas esteroides sexuales (HES), cuantificó, por primera vez en un estudio de ratones silvestres en vida libre, diferentes indicadores del metabolismo intermediario, como glucosa, triglicéridos, colesterol y urea. Los resultados obtenidos reflejaron que las poblaciones de *P. melanocarpus* despliegan una gran capacidad de regular su metabolismo, para adaptarse a condiciones adversas, ya que no se encontraron diferencias significativas al comparar a una población presente en un sitio alterado con otra que se distribuye en una localidad

“prístina”. De igual forma, no hubo variación entre individuos de diferente sexo, por lo que es probable que su metabolismo sea similar, independientemente de su condición reproductora y la composición de su dieta (Valdez-Gómez 2009).

En general, cuando los animales se alimentan, transforman las sustancias orgánicas que consumen para obtener los nutrientes necesarios que les permiten mantener sus procesos fisiológicos. Para lo cual, se llevan a cabo diversos procesos metabólicos (Matheus 2002; Nelson y Cox 2005); en algunos de estos, las moléculas originales consumidas son biotransformadas en moléculas más simples, por ejemplo, el catabolismo del almidón puede obtener glucosa. Pero también se sintetizan otras moléculas a partir del anabolismo, por ejemplo, de la glucosa se pueden producir lípidos como las grasas. Los nutrientes que aportan los alimentos se dividen en macronutrientes, si se requieren grandes cantidades diarias (*i. e.* en el orden de gramos), y en micronutrientes, si su requerimiento es mínimo (*i. e.* por debajo de los miligramos). Los principales macronutrientes son las proteínas, los carbohidratos y los lípidos, que constituyen la base de la dieta, ya que participan como sustratos en los procesos metabólicos para obtener energía (Garrido *et al.* 2005; Moyes y Shulte 2007). Por su parte los micronutrientes, que incluyen a las vitaminas y a los minerales, sólo participan en el metabolismo como reguladores metabólicos. Junto con el agua, todas estas moléculas deben de estar en el alimento que consumen los organismos para cubrir los requerimientos nutricionales necesarios para su crecimiento, desarrollo y reproducción (Silva 2005).

El crecimiento y el desarrollo de un individuo están determinados por factores genéticos y ambientales, siendo la nutrición un componente fundamental entre estos últimos. El aporte adecuado de nutrientes permite un crecimiento armónico que refleja fielmente el potencial genético. En cambio, la alimentación insuficiente puede

comprometer el ritmo de crecimiento, ya que la menor expresión del potencial genético puede ser permanente si ocurre en etapas tempranas y por períodos prolongados (Garrido *et al.* 2005).

Cuando un animal sufre algún trastorno provocado por enfermedades o por déficit o exceso de consumo de sustancias nutritivas, elimina aquellos metabolitos que no le son necesarios y retiene aquellos que le son útiles. El organismo es, incluso, capaz de liberar elementos de sus reservas o de sus estructuras para tratar de mantener sus funciones vitales. Todos estos elementos están presentes en la sangre y en la excreta, de modo que, al analizar o determinar dichos componentes en el laboratorio se puede conocer el estado metabólico en que se encuentran los animales. En este sentido, si el análisis de sangre, por ejemplo, revela un aumento de la urea indica dos posibles anomalías: (i) que hay un exceso de consumo de proteínas o (ii) que el animal está consumiendo sus propias proteínas para liberar la energía que requiere para cumplir sus funciones (Bavera 2000).

A los macronutrientes que pueden medirse, ya sea en la sangre (*i. e.* plasma o suero) o en la excreta, se les denominan Indicadores del Metabolismo Intermediario (IMI), ya que aportan información sobre el estado relativo de nutrición en que se encuentra el animal con base en la determinación de valores fisiológicos (Bavera 2000). La glucosa suele ser el IMI más utilizado para obtener la valoración relativa del metabolismo de los carbohidratos, puesto que es la principal fuente de energía para el metabolismo celular y se obtiene frecuentemente de la alimentación (Moyes y Shulte 2007). En general, los carbohidratos representan una fuente de energía rápidamente disponible por la célula, pues son compuestos relativamente sencillos y “fáciles” de metabolizar. Los carbohidratos se clasifican de acuerdo al número de unidades de azúcar en: monosacáridos (*e. g.* glucosa y fructosa); disacáridos (*e. g.* sacarosa y lactosa); oligosacáridos (*e. g.* inulina y

oligofruktosa), y polisacáridos (*e. g.* almidón, glucógeno y celulosa) (Harper 1971; Matheus 2002; Garrido *et al.* 2005; Nelsosn y Cox 2005).

Para los lípidos, los IMI suelen ser los triglicéridos y el colesterol por su importancia metabólica y fisiológica (Harper 1971). Los triglicéridos constituyen la principal fuente de energía vital y reserva energética del organismo animal como grasas. Por ello, los mamíferos como caso particular, utilizan las grasas como reservorios de moléculas fácilmente utilizables para producir energía (Garrido *et al.* 2005). En lo animales el exceso de lípidos es almacenado en el tejido adiposo subcutáneo, haciendo las veces de aislante térmico en climas fríos, además de conferir protección mecánica al cuerpo. La acumulación de grasas precede a la maduración sexual para conformar caracteres sexuales secundarios y forma también parte de la preparación previa para que el animal realice actividades de alto costo energético como la reproducción. El colesterol, por su parte, es un componente estructural muy importante en las membranas celulares, en las cuales regula propiedades físico-químicas como la fluidez. Además de ser una molécula precursora para la biosíntesis de: (i) hormonas esteroideas sexuales (HES) (progestinas, andrógenos y estrógenos) esenciales en la biología reproductora de los vertebrados; (ii) hormonas corticoesteroidales (HCE) (mineralocorticoides y glucocorticoides) imprescindibles para la regulación, por ejemplo, de minerales y del metabolismo de monosacáridos y proteínas; (iii) vitamina D, compuesto esencial en el metabolismo del calcio; (iv) sales biliares, que son muy importantes para la absorción de algunos nutrientes lipídicos y la vía principal para desechar el exceso de colesterol corporal (Randall *et al.* 2001; Garrido *et al.* 2005, Moyes y Shulte 2007).

Como ya se ha mencionado, la urea es uno de los IMI utilizados para conocer el metabolismo de las proteínas. La urea se forma en el hígado como producto terminal del

catabolismo proteico de los alimentos en los mamíferos y en menor medida, de la descomposición celular. En el metabolismo, el principal producto final de las proteínas es el amoníaco (NH_3) que luego se convierte en urea ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}_2$) en el hígado y se excreta a través de la orina y heces fecales. Esta urea eliminada, nos indica la cantidad de nitrógeno aportada por las proteínas ingeridas con los alimentos. En cuanto a la función de las proteínas, no existe proceso biológico alguno que no dependa de la participación de estos compuestos (Randall *et al.* 2001; Garrido *et al.* 2005; Nelson y Cox 2005; Moyes y Shulte 2007; Lehninger 2009).

III. JUSTIFICACIÓN.

3.1. JUSTIFICACIÓN GENERAL DEL PROYECTO.

La mayoría de los trabajos realizados sobre las necesidades energéticas en pequeños roedores se han enfocado en los hábitos alimentarios y la composición de la dieta (Vázquez *et al.* 2004; Silva 2005). Dichos estudios han respondido a cuestiones importantes sobre el uso diferenciado de los recursos y las implicaciones ecológicas de los hábitos alimentarios de los ratones de campo (Brown *et al.* 1996). Sin embargo queda pendiente, y representa un reto interesante, abordar estos aspectos en especies de ratones silvestres desde un punto de vista ecofisiológico, para así determinar cómo la variación en la fisiología afecta y es impactada por la distribución y abundancia de estos organismos en el espacio y en el tiempo. Además de que podríamos comprender como es que estos patrones y procesos, por los cuales la variabilidad ecofisiológica se origina y persiste, se reflejan en una adecuación biológica diferencial, así como con los límites o bordes de distribución de poblaciones y especies (Feder *et al.* 1987).

Por lo tanto, podemos decir que los ciclos metabólicos (*i. e.* energéticos) pueden reflejar la historia zoogeográfica de las especies, y pueden servir como una medida de la adaptación a las condiciones climáticas, temporales y espaciales, presentes en la evolución de las especies estudiadas (Flehart *et al.* 1973). Ya que el metabolismo es un complejo sistema que se ha modificado a lo largo de la evolución, de forma tal que la naturaleza ha seleccionado a las especies que disponían de la mayor eficacia metabólica, y que presentan mecanismos adecuados para sintetizar en cada momento las biomoléculas necesarias, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo, y con el menor coste energético, para adaptarse de forma eficiente al medio que los rodea.

Los eventos asociados a la asimilación de nutrientes y al metabolismo de los mismos, son igualmente necesarios para conocer las adaptaciones intra e interespecíficas que permiten la coexistencia de especies con nichos ecológicos semejantes dentro de un ecosistema, siendo este el caso de las especies estudiadas, que además presentan diferencias interesantes en tamaño y comportamiento que podrían estar relacionadas con los patrones metabólicos que despliegan ambas especies (Grodzinski y Wunder 1975; Peters 1983). A la vez, comprender la dinámica de los ecosistemas, es fundamental para llevar a cabo proyectos encaminados al manejo de los mismos, ya sea para la conservación de los recursos bióticos o para el control de especies consideradas plaga; en este sentido, se sabe que algunas especies del género *Peromyscus* son consideradas reservorios de enfermedades infecciosas (Cox 1979; Monroe *et al.* 1999; Sanchez *et al.* 2001). Esta comprensión es más factible con estudios en vida libre de los organismos que componen dichos ecosistemas.

3.2. INDICADORES DEL METABOLISMO INTERMEDIARIO (IMI).

En esta tesis se plantea que aspectos relacionados con la captación y uso de nutrientes pueden ser abordados mediante la evaluación del contenido de IMI: glucosa para carbohidratos; colesterol y triglicéridos para lípidos, y urea para proteínas. Estos IMI pueden ser una herramienta fundamental para estudiar el desempeño fisiológico de diferentes organismos en condiciones ambientales distintas (Campos 2004). Mediante procedimientos sencillos, menos costosos que los habituales, tales como el estudio de la dieta y el marcaje radioisotópico, pueden arrojar resultados confiables en poco tiempo. Para este fin, se ha analizado el comportamiento de algunos IMI en individuos adultos de las dos especies seleccionadas, *P. melanotis* y *P. difficilis*, recabando información mensual, a lo largo de un año, pero sin exponerlos a condiciones controladas, lo que nos permite establecer si existen diferencias metabólicas entre sexos y especies, así como la posible relación de estas diferencias con los cambios en las condiciones climáticas.

3.3. CUANTIFICACIÓN DE LOS IMI EN PLASMA Y EN EXCRETAS.

Normalmente, la evaluación de IMI se hace determinando su contenido en sangre por medio de técnicas bioquímicas y por ello se le denomina química o bioquímica sanguínea. Por lo tanto, el estudio bioquímico de la sangre puede ser de gran utilidad para el conocimiento de la fisiología y la adaptación de las especies a su medio ambiente (Schreiner *et al.* 2004); sin embargo, las técnicas de extracción de sangre en lo general y más aún en pequeños roedores son traumáticas e invasivas, implicando daño o hasta la muerte del animal (Valdespino *et al.* 2007). Por eso, en este trabajo, además de evaluar los contenidos de IMI en el plasma, se utilizan también heces fecales -excretas- con la intención de establecer un método no invasivo para evaluar los IMI en roedores silvestres

en vida libre. De tal manera que al comparar los resultados en sangre y excretas, las relaciones entre ambos perfiles nos permitan obtener un patrón de referencia fisiológico, que haga posible establecer el comportamiento metabólico de estos organismos a partir del análisis único de la materia fecal (Valdez-Gómez 2009).

3.4. LAS ESPECIES DE *Peromyscus* COMO MODELOS DE ESTUDIO.

Tanto *Peromyscus melanotis*, como *P. difficilis*, fueron considerados como modelos idóneos para esta tesis por las siguientes razones; (i) ambas tienen tasas reproductivas suficientes para que su abundancia permita obtener el número de muestra propuesto en este trabajo ($n_{\min}= 4$ machos y 4 hembras), sin impactar significativamente a sus poblaciones. (ii) La diferencia en el tamaño de ambas especies, teóricamente relacionada con el metabolismo, es un factor importante en la comprensión de las estrategias ecológicas que despliegan estos organismos (Peters 1983). (iii) Además se han estado estudiando en el laboratorio de mamíferos de la UAMI, diferentes aspectos de la sistemática, la ecología y la fisiología de estas poblaciones desde hace varios años. (iv) Por lo tanto, se tienen bien identificados los sitios donde las poblaciones presentan mayor abundancia relativa y hay mayor éxito de captura. (v) Por último, la cercanía de las localidades de estudio, tanto en el PNCA como en el PNDL, redujeron significativamente los costos y el tiempo invertido en la realización de esta tesis.

IV. OBJETIVOS.

4.1. OBJETIVO GENERAL.

- Evaluar algunos indicadores del metabolismo intermediario (IMI) en dos especies del género *Peromyscus* en dos localidades de bosque templado al oeste de la Ciudad de

México durante un año, para establecer su comportamiento metabólico de forma temporal, relacionándolo con la fluctuación climática del área de estudio, así como con el tamaño corporal, el sexo y el estado reproductor de los individuos que componen a las poblaciones estudiadas.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES.

- Analizar y relacionar los patrones encontrados en el comportamiento metabólico con algunos parámetros ambientales (*e. g.* temperatura, humedad relativa y ciclos circadianos) con un enfoque temporal (*e. g.* variación estacional, variación de la época de lluvias y de secas), para reconocer la magnitud de la influencia de diversos factores climáticos en las necesidades energéticas de cada una de las especies estudiadas.

- Identificar las similitudes y/o diferencias en la concentración de IMI que presenten ambas especies, para reconocer si las diferencias en tamaño representan necesidades interespecíficas significativamente distintas en la captación y el uso de energía.

- Establecer si existen diferencias en la concentración de glucosa, triglicéridos, colesterol y urea, entre machos y hembras de la misma especie, tanto en *Peromyscus melanotis* como en *P. difficilis*, con el fin de identificar si el rol que juegan los diferentes sexos en la reproducción tienen un impacto significativo en su metabolismo.

V. HIPÓTESIS.

H 1. En un ambiente templado y relativamente estacional, la variación de la temperatura y la pluviosidad definen la abundancia o escasez de los recursos alimentarios para las dos especies de *Peromyscus* que cohabitan en el área, lo que a su vez influye sobre el metabolismo intermediario, canalizando o separando sus patrones respectivamente; por

ende, las concentraciones de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea, tanto circulantes (*i. e.* sangre) como eliminados (*i. e.* excretas), en ambas especies, mostrarán variaciones estacionales, las cuales tendrán relación con las fluctuaciones de esos factores ambientales, a través de un ciclo anual.

H 2. La divergencia evolutiva que ha favorecido la diferenciación en el tamaño corporal entre dos especies sintópicas de *Peromyscus*, también favorecerá diferencias en su metabolismo intermediario, de manera que los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea, tanto circulantes en sangre, como los que son eliminados en excretas, serán diferentes entre *P. melanotis* y *P. difficilis*, a lo largo de un ciclo anual.

H 3. El papel que juegan hembras y machos en la reproducción establece diferencias metabólicas, de manera que las concentraciones, de glucosa, colesterol, triglicéridos y urea, tanto circulantes como eliminadas, podrían mostrar esas diferencias a lo largo de un año.

VI. ÁREAS DE ESTUDIO.

6.1. PARQUE NACIONAL CUMBRES DEL AJUSCO.

Se localiza al suroeste del Valle de México dentro de la Sierra del Ajusco (Vargas 1984). El clima es templado subhúmedo del tipo C(w1)(w)(b')i' (García 1981). El periodo de temperatura más alta es de abril a septiembre con un promedio de 15 ± 2 °C y el de temperatura baja es de noviembre a febrero con un promedio de 11 ± 1 °C. El periodo de lluvias se presenta de mayo a octubre con una precipitación de 152 ± 22 mm y el periodo de estío de noviembre a abril con una precipitación promedio de 16 ± 11 mm. La vegetación es de bosque templado con plantas estacionales y pastos amacollados. El estrato arbóreo está constituido por bosques de coníferas que incluyen oyamel (*Abies religiosa*) y *Quercus*

(encino), así como por bosque mixto de pino-encino (*Pinus-Quercus*). El sotobosque incluye pastos de gramíneas amacolladas (*Muhlenbergia sp*, *Festuca sp*) o zacatonal y abundantes arbustos conformados principalmente de *Senecio* y *Salix*, así como plantas estacionales que incluyen compuestas, rosáceas y solanáceas, entre otras. Su estrato rasante está conformado por musgos, líquenes y hongos (Rzedowski 1978). La localidad de estudio en este Parque se encuentra entre los 2800 y los 3500 msnm (Figura 1).

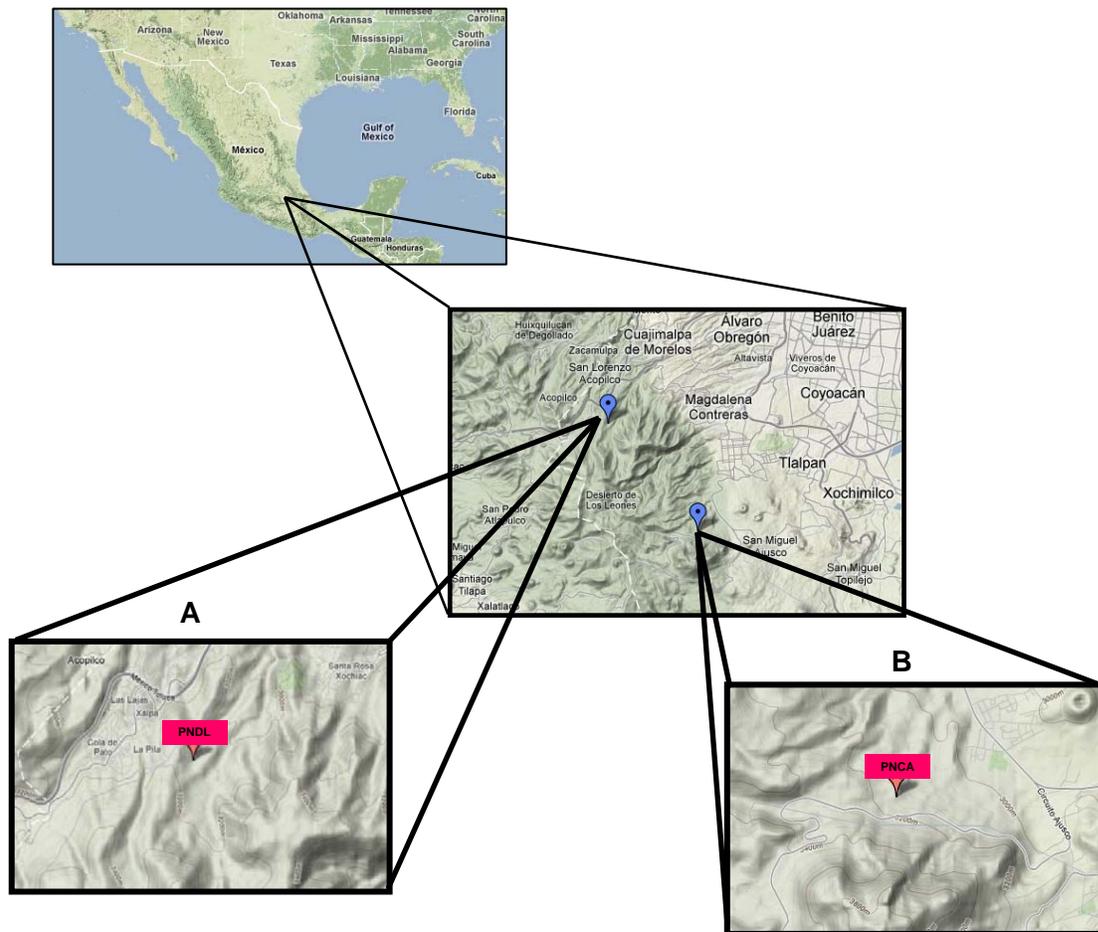


Figura 1. Mapa en donde se muestra la ubicación de las localidades de estudio, ubicadas en el Parque Nacional Desierto de los Leones (A) y el Parque Nacional Cumbres del Ajusco (B). Imágenes modificadas del INEGI (2009).

6.2. PARQUE NACIONAL DESIERTO DE LOS LEONES.

Localizado al oriente del Valle de México, forma parte de una serranía que continúa con la Sierra del Ajusco (Vargas 1984). El clima es templado subhúmedo del tipo C(w₂)(w')(b')ig (García 1981). La temperatura más alta se registra de abril a julio, siendo en promedio de 12.6 ± 6 °C y la temperatura baja de diciembre a febrero con un promedio de 8.1 ± 2 °C. El periodo de lluvia es de mayo a agosto con una precipitación promedio de 235 ± 30 mm, mientras que el periodo de estío va de diciembre a febrero con una precipitación de 12 ± 4 mm. La vegetación de bosque templado (Rzedowski 1978), presenta un estrato arbóreo constituido por diferentes combinaciones de oyamel (*Abies*), pino (*Pinus*) y encinos (*Quercus*) en las zonas sin reforestar; el sotobosque incluye estratos arbustivos (*Senecio* y *Salix*) y herbáceos en donde predominan las gramíneas y diversas plantas estacionales; el estrato rasante está constituido principalmente por musgos y líquenes, así como por algunos hongos. La localidad de estudio en este Parque Nacional va de los 2850 a los 3100 msnm (Figura 1).

VII. MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1. TRABAJO DE CAMPO.

7.1.1. Recolección de ejemplares.

Se realizaron recolectas mensuales, de marzo del 2008 a abril del 2009, para capturar ejemplares vivos, tanto de *P. melanotis* como de *P. difficilis*, considerando fechas de los equinoccios y solsticios, así como ausencia de plenilunios.

El muestreo fue dirigido (*i. e.* no al azar), conociendo con anticipación las zonas en donde se encuentran ambas especies en las localidades antes descritas (en el PNCA se hizo

entre los 19° 13' 49" N y los 99° 15' 19" W, mientras que en el PNDL fue entre los 19° 18' 17" N y los 99° 19' 14" W). En cada una de las salidas (11 en total) se usaron 120 trampas Sherman® (Talahassi, Fl., USA) cebadas con hojuelas de avena, las cuales fueron colocadas a lo largo de un transecto en forma de banda de aproximadamente 10 m de ancho con una longitud variable de aproximadamente 300 m.

Una vez capturados los ejemplares, se identificaron de acuerdo a la especie y a su edad *in situ* (Goodwin 1969; Hall 1981; Rickart y Robertson 1985; Kunz *et al.* 1996; Romero-Almaraz *et al.* 2000), utilizando solo individuos adultos, los cuales fueron determinados en campo con base en el tamaño del cuerpo y la coloración del pelaje para la especie (Rickart y Robertson 1985; Kunz *et al.* 1996; Vázquez *et al.* 1999; Romero-Almaraz *et al.* 2000). Los organismos capturados que correspondían a la categoría juvenil se identificaron (Kunz *et al.* 1996) y posteriormente se liberaron. La captura exclusiva de individuos adultos permitió reducir la variación que podría deberse a la edad (*e. g.* diferencias con animales juvenes o subadultos), además de que sobre este grupo recae el esfuerzo reproductor (Salame-Méndez *et al.* 2005).

Durante la recolecta, se anotaron en hojas *ad hoc*, datos relacionados con el trampeo (Ramírez-Pulido *et al.* 1989); estas anotaciones incluyen el registro de los animales que fueron liberados cuando se alcanzaba el número esperado de recolecta ($n_{\min}=4$ machos y 4 hembras), así como especies que no son el objeto de este estudio. Todos los animales que murieron durante el trampeo, fueron llevados al laboratorio para procesarlos como ejemplares de referencia depositándolos en la Colección de Mamíferos de la UAM.

Cabe señalar que debido a problemas de seguridad pública, debimos suspender las salidas a la localidad ubicada en el PNCA, a partir del mes de agosto del 2008, por lo que los perfiles mensuales y estacionales presentados en este trabajo corresponden

exclusivamente a las poblaciones presentes en el PNDL. Sin embargo, el muestreo nos permitió realizar una comparación entre las poblaciones de *P. melanotis*, la única de las dos especies estudiadas que se encontró en ambas localidades.

7.1.2. Medición de variables ambientales.

Se obtuvo el registro digital (Taylor[®]) de la temperatura (°C) y la humedad (%), así como el de la altitud (msnm) (Garmin, Geko 301), a lo largo del transecto en cada salida y, en particular, en los sitios en donde fueron capturados los ratones. Estos datos, así como los registrados por la estación meteorológica 766800 (TUTTIEMPO NETWORK 2009), la más cercana a las localidades de estudio y que se encuentra a 2308 msnm (Latitud: 19.4 N | Longitud: -99.2 W) fueron correlacionados con las concentraciones de IMI, lo que permitió establecer posibles relaciones entre los factores ambientales y las necesidades energéticas de ambas especies.

7.2. TRABAJO DE LABORATORIO Y DE GABINETE.

7.2.1. Preparación de los ejemplares.

Los animales fueron trasladados, el mismo día de su captura, al Laboratorio de Mamíferos de la UAM-I y sacrificados mediante dislocación cervical. Se tomaron las medidas convencionales (Hall 1981; Ramírez-Pulido *et al.* 1989; Kunz *et al.* 1996; Romero–Almaraz *et al.* 2000), incluidas el peso y el volumen testicular. La piel y el material óseo fueron preparados siguiendo a Ramírez-Pulido *et al.* (1989) para ser alojados en la Colección de Mamíferos de la UAM.

7.2.2. Recolección de excretas.

Las excretas que se encontraron en las trampas fueron colocadas en tubos Eppendorf, previamente rotulados; cuando no las hubo en las trampas, se tomaron 3-5 excretas de la última porción del intestino grueso durante la disección del animal. Las muestras fueron almacenadas en etanol absoluto y se mantuvieron en refrigeración (8 °C) hasta el momento de la cuantificación de los IMI.

7.2.3. Recolección de sangre.

Se disectó la piel del animal a lo largo de la línea media ventral para exponer la caja torácica, retirando el esternón y parte de las costillas para exponer el corazón. Una vez hecho esto, por medio de una punción cardiaca con una pipeta Pasteur, previamente preparada con anticoagulante (EDTA), se retiró la mayor cantidad de sangre posible evitando sustraer coágulos. La sangre así colectada (1.5-2 mL / por animal) se colocó en tubos Eppendorf para posteriormente separar el plasma del paquete celular mediante una centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos (HERMLE z-233 Labnet®). El plasma fue almacenado en congelación (- 3 °C) hasta el momento de la valoración de los IMI. Durante la disección se conservaron algunos tejidos (*e. g.* corazón, hígado, riñón), que se conservaron en etanol al 70% y las gónadas o embriones en formaldehído al 10% para realizar otros estudios.

7.2.4. Cuantificación de metabolitos.

Se usaron estuches *ad hoc* - kits (SPINREACT®) - para la cuantificación de glucosa, como indicador de carbohidratos; de colesterol y triglicéridos, como indicadores de lípidos; y de urea, como indicador de proteínas. Los métodos que se utilizan para las determinaciones de los distintos IMI, están descritos para ser utilizados en plasma

directamente, de tal manera que una vez la sangre fue separada, la cuantificación es realizada en el plasma sin extracción alguna.

Las heces fueron pesadas con balanza analítica (OHAUS[®]), para referir las concentraciones de IMI a una cantidad de excreta conocida. Se tomaron las muestras conservadas en etanol, se homogenizaron y se centrifugaron durante 5 minutos a 3500 rpm (HERMLE z-233 Labnet[®]) en los tubos Eppendorf; del sobrenadante se tomaron las muestras para realizar las cuantificaciones de la misma forma que con el plasma. La concentración de cada metabolito fue determinada en un espectrofotómetro (SPECTRONIC[®]).

Marco de referencia con ratones CD1. Debido a la escasa información que se tiene sobre el comportamiento fisiológico de pequeños roedores a través del uso de indicadores del metabolismo, se trabajó con 50 ratones *Mus musculus* (CD1) machos, de diferentes edades, para obtener los perfiles ontogénicos de las concentraciones en plasma de los IMI. Cabe aclarar que aún cuando no se trate de las mismas especies, esto nos permitió la estandarización de las técnicas de cuantificación y los resultados nos facilitaron la comprensión de las estrategias alimentarias en ratones de campo en su hábitat, a través de la comparación entre organismos que se encuentran en vida libre con aquellos sujetos a condiciones controladas en el bioterio.

7.2.5. Análisis estadísticos.

Para analizar el comportamiento de los datos, se utilizó la estadística descriptiva (*i. e.* media, moda y mediana; desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, valores mínimo y máximo), así como pruebas de normalidad, homocedasticidad y curtosis (Zar 2007).

En aquellos casos en que los datos mostraron una distribución normal se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para comparar el comportamiento mensual, estacional, de forma intraespecífica, de los diferentes IMI. Cuando los datos no se ajustaron a la normalidad, se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para el mismo propósito. A estas pruebas les siguieron pruebas de comparaciones múltiples *a posteriori* (Tukey para las pruebas normales; Kruskal-Wallis para las no-paramétricas) para reconocer en donde se encontraron las diferencias (Zar 2007). Lo mismo se hizo cuando se analizó el comportamiento de otras variables de comportamiento lineal, como el peso testicular en machos. Las comparaciones entre sexos y especies, se realizaron mediante las pruebas estadísticas t de Student, para dos muestras independientes, en los casos en donde los datos se ajustaban a la normalidad, y la prueba no-paramétrica Man-Whitney, cuando no lo hacían.

Al trabajar con los machos de ambas especies de *Peromyscus*, se usaron pruebas de regresión lineal para determinar si existía alguna relación entre el peso total individual y el peso de los testículos (Zar 2007). Debido a que la relación resultó positiva, se realizaron análisis de covarianza (ANCOVA) para establecer el comportamiento del peso total, sin considerar la variación debida al peso testicular, eliminando el sesgo por efecto de esta última variable. Algunos análisis estadísticos son descritos al presentar los resultados.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de significancia de $\alpha \leq 0.05$, utilizando los paquetes estadísticos GraphPrisma[®] (Motulsky 1999) y NCSS (Hintze 2003). Las gráficas presentadas fueron construidas con las herramientas del paquete OpenOffice 3.1. La escala logarítmica fue utilizada en las gráficas que incluyen el comportamiento de los IMI en plasma y en excretas, debido a la diferencia en magnitud; el contenido en heces se expresa en ng/gr, por lo que en este medio de cuantificación los

indicadores se encuentran más concentrados que en el plasma, expresado por su parte en mg/dL.

VIII. RESULTADOS.

8.1. DATOS DE RECOLECTA.

A lo largo del proyecto se realizaron 11 muestreos en total, cada uno de ellos en los meses de mayo, junio-julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre del 2008, continuando en enero, febrero, marzo y abril del 2009, en los que se capturaron en total 337 pequeños roedores, de los cuales 272 pertenecen a las especies estudiadas y de estas solo 186 fueron llevadas al laboratorio para ser procesadas (Cuadro 1). Los demás fueron identificados, registrados y posteriormente liberados en el mismo sitio de captura.

Cuadro 1. Número de individuos capturados y procesados en el laboratorio durante el proyecto; mayo, junio-julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre del 2008; enero, febrero, marzo y abril del 2009.

Especie	Sexo	Captura por sexo	Captura Total
<i>P. difficilis</i>	Machos	68	118
	Hembras	50	
<i>P. melanosis</i>	Machos	39	68
	Hembras	29	

Se calculó el esfuerzo de captura (EC), multiplicando el número de trampas que se utilizan en cada salida por el número de noches que duró el trapeo. Posteriormente se estimó el éxito de captura (EXC), dividiendo el número de individuos capturados (Cuadro 2) entre el EC y multiplicando el resultado por 100 (Wilson *et al.* 1996). Mostrando un total de 15.83% de EXC, considerando solo a las dos especies estudiadas en el PNDL (Cuadro 3). Cabe señalar que el éxito de captura es particularmente elevado, considerando que se trata de un bosque templado.

Cuadro 2. Individuos capturados de *P. melanotis* (*Pm*) y *P. difficilis* (*Pd*) en el Parque Nacional Desierto de los Leones, durante cada una de las salidas del proyecto.

Salida	May	Jun;Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene	Feb	Mar	Abr	Total
<i>Pm</i>	10	12	9	8	3	2	0	5	1	2	52
<i>Pd</i>	32	17	22	18	35	17	12	10	13	19	195
Total	42	29	31	26	38	19	12	15	14	21	247

La abundancia de *P. melanotis*, es muy baja en el PNDL, en comparación con la mostrada por *P. difficilis* (Cuadro 3), además podemos observar una caída dramática en la su captura a partir de octubre del 2008 y hasta abril del 2009. Mientras que *P. difficilis*, aún cuando también descendió en esta época, fue más constante en esta área de estudio (Cuadro 3). También se capturaron 25 ejemplares de *P. melanotis*, en el PNCA; 14 en mayo del 2008 y el resto en el mes de junio de ese mismo año, estos roedores fueron comparados con los capturados en el PNDL en las mismas fechas.

Cuadro 3. Esfuerzo y éxito de captura de las dos especie de *Peromyscus*. Se presentan los datos por salida y en total, exclusivamente en el Parque Nacional Desierto de los Leones.

Salida	May	Jun;Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene	Feb	Mar	Abr	Total
T/n	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120	120
Noches	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	13
EC	240	240	120	120	240	120	120	120	120	120	1560
Ex <i>Pm</i>	4.17	5	7.5	6.67	1.25	1.67	0	4.17	0.83	1.67	3.33
Ex <i>Pd</i>	13.33	7.08	18.33	15	14.58	14.17	10	8.33	10.83	15.83	12.5
Total	17.5	12.08	25.83	21.67	15.83	15.83	10	12.5	11.67	17.5	15.83

8.2. MARCO DE REFERENCIA CON RATONES CD1.

Los resultados que se presentan a continuación forman parte del proyecto de tesis y fueron obtenidos con la metodología aquí descrita, a partir de las muestras en plasma de un

grupo de 50 ratones machos de la cepa CD1 de *Mus musculus*. Estos ratones fueron proporcionados por el bioterio de la UAMI.

8.2.1. Agrupación en diferentes categorías de edad.

Debido a la dificultad para conocer con certeza la edad cronológica de los organismos silvestres en condiciones de vida libre y para facilitar la comparación con los individuos de ambas especies de *Peromyscus*, fue necesario agrupar a los individuos CD1 en diferentes categorías de edad -CE- como se suele hacer con organismos silvestres, pero considerando el peso total individual, así como el peso y el volumen testicular, y utilizando el método de Varianza Mínima de Ward (Zar 2007) (Figura 2). De esta forma los individuos de 3 y 4 semanas de edad, sexualmente inmaduros, conforman a los juveniles (CE I), el segundo grupo (CE II), que engloba a los individuos de 5, 6, 7 y 8 semanas de vida, pueden ser considerados como subadultos, organismos que están entrando a la madurez sexual y por último, los individuos de 12, 17, 20 y 25 semanas, se agruparon como adultos (CE III), sobre los cuales recae principalmente la reproducción (Cuadro 4).

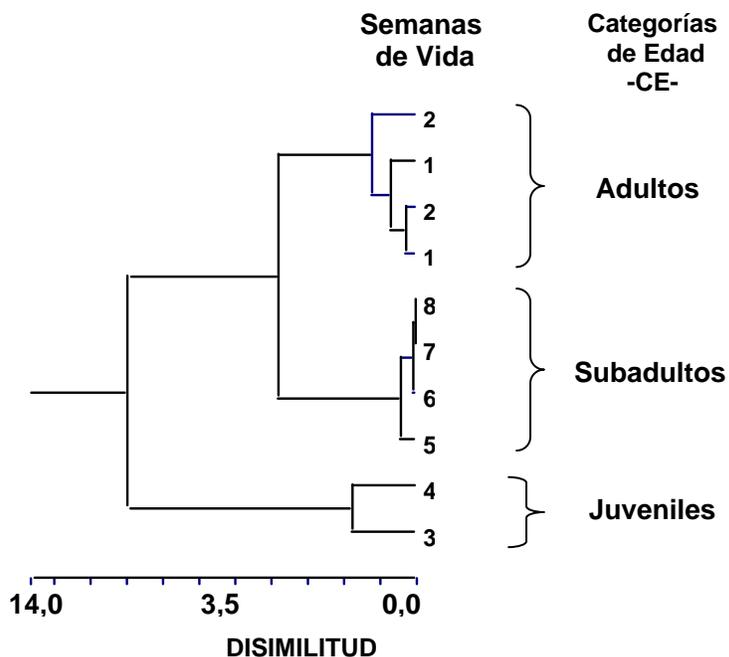


Figura 2. Cluster de 50 ratones CD1, considerando el peso individual, el volumen y el peso de los testículos.

8.2.2. Cuantificación de IMI.

Al comparar las concentraciones en plasma, tanto de glucosa (Glu) como de triglicéridos (Tri) por CE, observamos que los niveles significativamente más bajos los presentan los individuos juveniles (Glu: $F = 4.93$, $g.l = 2$, $P = 0.011$; Tri: $F = 3.66$, $g.l = 2$, $P = 0.033$), mientras que no existen diferencias significativas entre las CE II y III ($P > 0.05$), aún cuando los niveles registrados de Triglicéridos son mayores en los adultos con respecto a los demás, mientras los subadultos presentan los niveles superiores de glucosa (Figura 3).

Cuadro 4. Agrupación en base a características morfológicas de 50 machos CD1, en diferentes categorías de edad (juveniles, subadultos y adultos).

Categoría	Edad en semanas	Número de individuos
Juveniles	3	5
	4	6
	5	6
Subadultos	6	5
	7	6
	8	6
	12	5
	17	5
Adultos	20	3
	25	3

Por su parte los niveles de colesterol (Col) y urea (Ure) (Col: $H = 1.73$, $g.l = 2$, $P = 0.419$; Ure: $H = 2.42$, $g.l = 2$, $P = 0.297$), no mostraron diferencias significativas entre CE. Sin embargo, resulta interesante observar que, en promedio, el nivel de colesterol en los

juveniles es muy superior a los mostrados por subadultos y adultos, mientras que el nivel de urea resulta mayor en los individuos de la CE III con respecto a las otras dos (Figura 3).

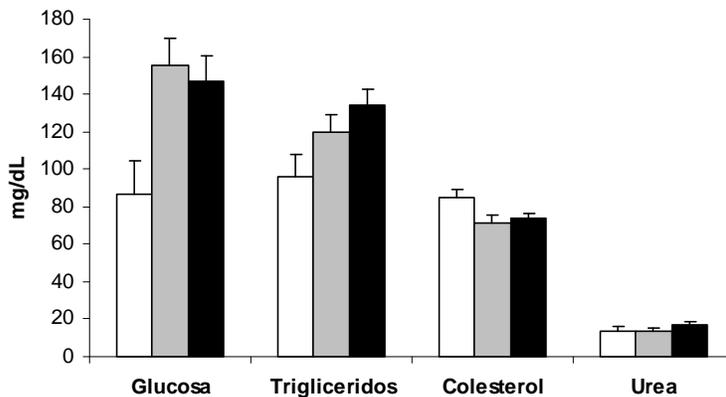


Figura 3. Perfiles de la concentración en plasma de cuatro Indicadores del Metabolismo Intermediario (IMI) en diferentes categorías de edad (CE); juveniles (barras blancas), subadultos (barras grises) y adultos (barras negras).

A continuación se presentan los resultados del contenido de IMI, en las dos especies del género *Peromyscus*, que son objeto de estudio en este proyecto.

8.3. *Peromyscus difficilis*.

8.3.1. Comportamiento mensual de IMI.

Los perfiles mensuales de la concentración en plasma de glucosa, trigliceridos y colesterol, muestran una variación significativa (Glu: $H = 52.55$; $P < 0.0001$; Tri: $H = 49.51$; $P < 0.0001$ Col: $F = 60.92$; $P < 0.0001$) (Figura 4).

Por su parte, la concentración de urea mostró variación significativa de forma mensual ($H = 38.02$; $P < 0.0001$). Sin embargo, se aprecia un comportamiento distinto en comparación con los otros dos IMI; en los primeros meses del año la urea se encuentra en concentración más baja, particularmente en abril, incrementando en los meses de mayo y

julio, cuando alcanza el nivel más elevado, para caer un poco y mantenerse constante en los meses de agosto, septiembre y octubre, decayendo subitamente en noviembre (Figura 4).

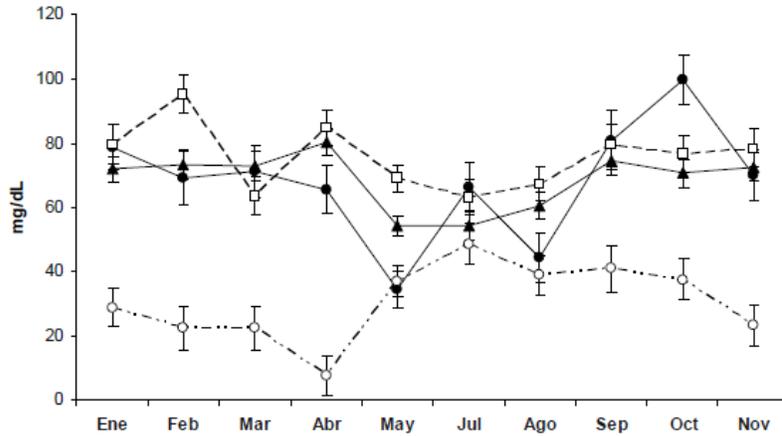


Figura 4. Comportamiento mensual de la concentración en plasma de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en *P. difficilis*.

La concentración de los IMI en las excretas presenta diferencias significativas (Glu: $H = 16.49$; $P = 0.06$; Tri: $H = 16.44$; $P = 0.06$ Col: $H = 63.81$; $P < 0.0001$; Ure: $H = 41.00$; $P < 0.0001$), sin embargo, muestran un comportamiento distinto al observado en plasma. Tanto la glucosa, como el colesterol, se mantienen constantes a lo largo del año, salvo un súbito incremento en los meses de abril, para el colesterol, y mayo, para la glucosa.

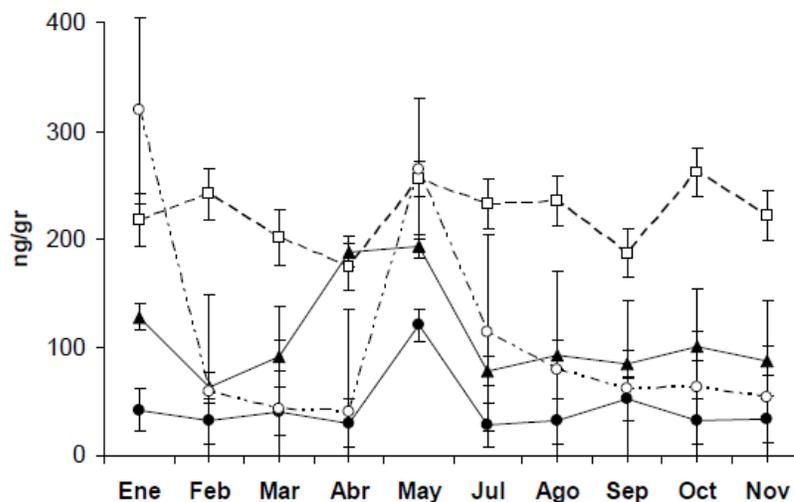


Figura 5. Comportamiento mensual de la concentración en excretas de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en *P. difficilis*.

Los triglicéridos muestran un comportamiento trimodal, con sus valores más elevados en febrero, mayo y octubre, y con valores muy bajos en abril y septiembre. La urea, también se comporta de forma distinta que en el plasma, exhibiendo un patrón bimodal, con los niveles significativamente más elevados en enero y mayo (Figura 5).

8.3.2. Comportamiento estacional de IMI.

Si se analizan los perfiles de forma estacional, nos percatamos que la concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol muestran un mismo patrón; las concentraciones significativamente menores se encuentran en la primavera y el verano, mientras que en el otoño e invierno, se dan los niveles significativamente superiores. Por su parte, la urea presenta un comportamiento distinto, con el valor más bajo en otoño y el más elevado en invierno (Figura 6). Los cuatro IMI, muestran concentraciones significativamente distintas a lo largo de las cuatro estaciones del año (Glu: $H = 25.49$; $P < 0.0001$; Tri: $H = 21.14$; $P = 0.0001$; Col: $H = 24.16$; $P < 0.0001$; Ure: $H = 12.9$; $P = 0.0041$).

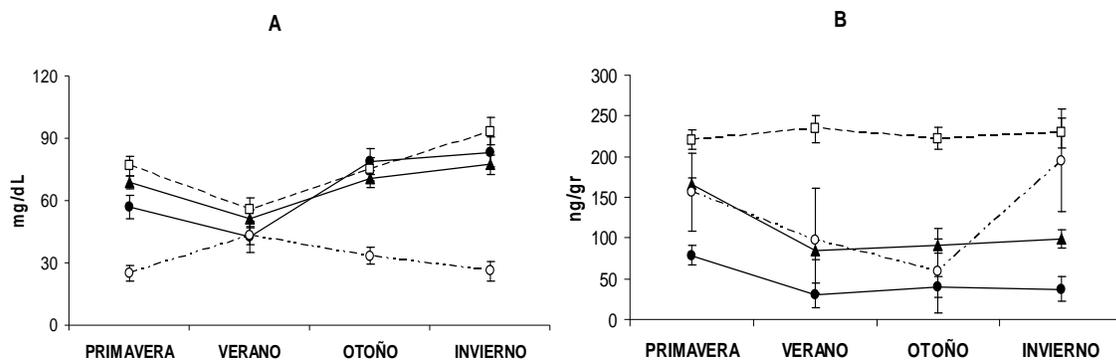


Figura 6. Comportamiento estacional de la concentración en plasma (A) y excretas (B) de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en *P. difficilis*.

8.3.3. Comparación intersexual en *P. difficilis*.

Al comparar la concentración de los diferentes IMI entre machos y hembras no encontramos diferencias significativas, tanto en plasma (Glu: H = 25.49; P < 0.0001; Tri: H = 21.14; P = 0.0001; Col: H = 24.16; P < 0.0001; Ure: H = 12.9; P = 0.0041) como en excretas (Glu: H = 25.49; P < 0.0001; Tri: H = 21.14; P = 0.0001; Col: H = 24.16; P < 0.0001; Ure: H = 12.9; P = 0.0041). Tampoco existen diferencias a nivel estacional o mensual (Figura 7), por lo que el comportamiento metabólico es similar en ambos sexos,

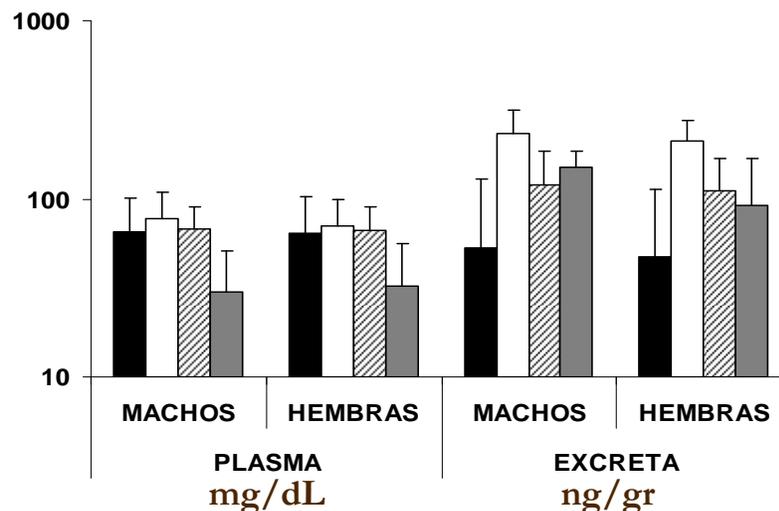


Figura 7. Concentración de diferentes IMI en machos y hembras de *P. difficilis*; glucosa (columnas negras), trigliceridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises). Los resultados están expresados en escala logarítmica.

8.3.4. Reproducción en machos.

A continuación se presentan datos que permiten reconocer patrones reproductores en los machos, con el objeto de discutir y dar una explicación a los datos referentes a los IMI.

Variación estacional del volumen testicular. Si bien esta especie se reproduce de forma constante a lo largo del año, se ha observado que tiene un pico reproductor en primavera debido al hecho de registrarse más hembras gestantes y lactantes en dicha época. Además de constatarse una variación estacional en el volumen y peso testicular relacionados directamente con la concentración de testosterona y el contenido de espermatozoides, tanto en epidídimo como en el testículo, que en conjunto pueden ser utilizados como indicadores de la actividad reproductora de *P. difficilis*.

En este sentido, observamos que los resultados obtenidos son congruentes con lo hasta ahora estudiado, ya que es en la primavera y el invierno cuando es significativamente mayor el peso testicular y en el otoño se encuentran los testículos menos pesados ($F = 6.45$; $g.l. = 3$; $P = 0.0007$) (Figura 8).

Variación estacional del peso individual. El peso total del individuo, también puede revelarnos algunas claves sobre el comportamiento general de los IMI. Se ha observado (datos no publicados) que el peso total del individuo varía a lo largo del año, siendo más bajo en los meses de mayor estrés, debido a las condiciones ambientales o al gasto reproductor.

Un análisis de regresión lineal muestra claramente que existe en los machos adultos una relación directa entre el peso total del individuo y el volumen testicular ($T = 6.81$; $g.l. = 54$; $P = 0.000$; $R^2 = 0.47$), por lo que se realizó un análisis de covarianza para observar el comportamiento del peso de forma estacional, sin considerar la variación debida al largo total y al volumen de los testículos.

De esta forma podemos ver que aún cuando la variación no llega a ser estadísticamente significativa ($F = 2.6$; $g.l. = 3$; $P = 0.06$), el peso del animal es superior en el otoño (Figura 8).

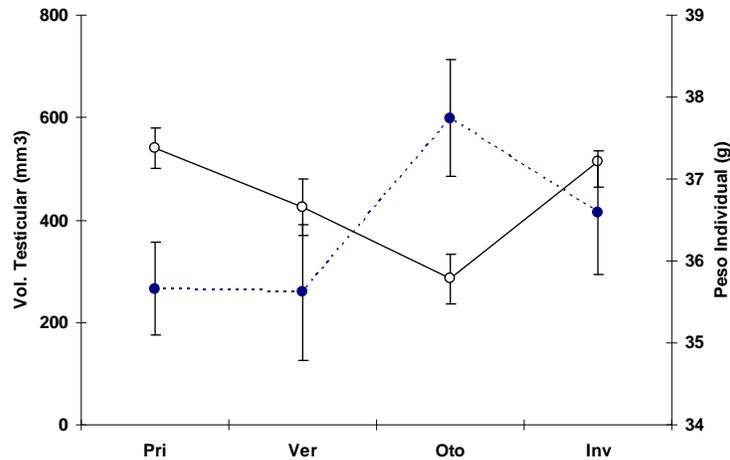


Figura 8. Comportamiento estacional del peso total (línea punteada) y el volumen testicular (línea continua) en machos de *P. difficilis*.

8.3.5. Reproducción en hembras.

Los datos obtenidos en el trabajo de laboratorio nos permiten determinar con precisión el estado reproductor de las hembras capturadas a partir de la condición de la vagina, las mamas y los pezones (*i. e.* características observables en el campo), así como la presencia de folículos, cuerpos lúteos, botones de implantación y embriones (*i. e.* observaciones hechas en el laboratorio). A continuación se presentan la comparación de las hembras, divididas, para este propósito, en estados de lactación (*e. g.* las hembras lactantes (Lac) presentan mamas desarrolladas, alopecia y tejido lácteo, cuando carecen de alguna de estas características se clasifican como no lactantes (NLac)) y gestación (*e. g.* cuando se presentan en el aparato reproductor botones de implantación, folículos y embriones en desarrollo se trata de hembras gestantes (Ges), por su parte las no gestantes (NGes) no presentan estas evidencias).

Estado de lactación. Existen diferencias significativas entre hembras lactantes y no lactantes, en los cuatro IMI analizados, ya sea en plasma (Glu: $Z = 2.04$; $P = 0.04$; Tri: $T = -2.80$; $P = 0.008$; Col: $Z = 1.34$; $P = 0.17$; Ure: $Z = -2.78$; $P = 0.005$) o en excretas (Glu: $Z = -0.02$; $P = 0.97$; Tri: $T = -0.66$; $P = 0.50$; Col: $Z = 0.57$; $P = 0.56$; Ure: $Z = -0.26$; $P =$

0.79), se puede notar que la glucosa, como los triglicéridos y el colesterol, son superiores en las hembras lactantes, tanto en plasma como en excretas (Figura 9).

Estado de gestación. Al agrupar a las hembras en diferentes estados de gestación se observa un comportamiento similar al anterior. Sin embargo, solo se presentaron diferencias significativas en el comportamiento de la urea, en plasma (Glu: $Z = 0.868$; $P = 0.38$; Tri: $T = -1.41$; $P = 0.17$; Col: $Z = -0.17$; $P = 0.86$; Ure: $Z = -1.97$; $P = 0.048$). En excretas el comportamiento no difiere entre este tipo de hembras (Glu: $Z = 13.14$; $P = 0.89$; Tri: $T = 1.17$; $P = 0.24$; Col: $Z = 1.06$; $P = 0.28$; Ure: $Z = 0.36$; $P = 0.72$). (Figura 9).

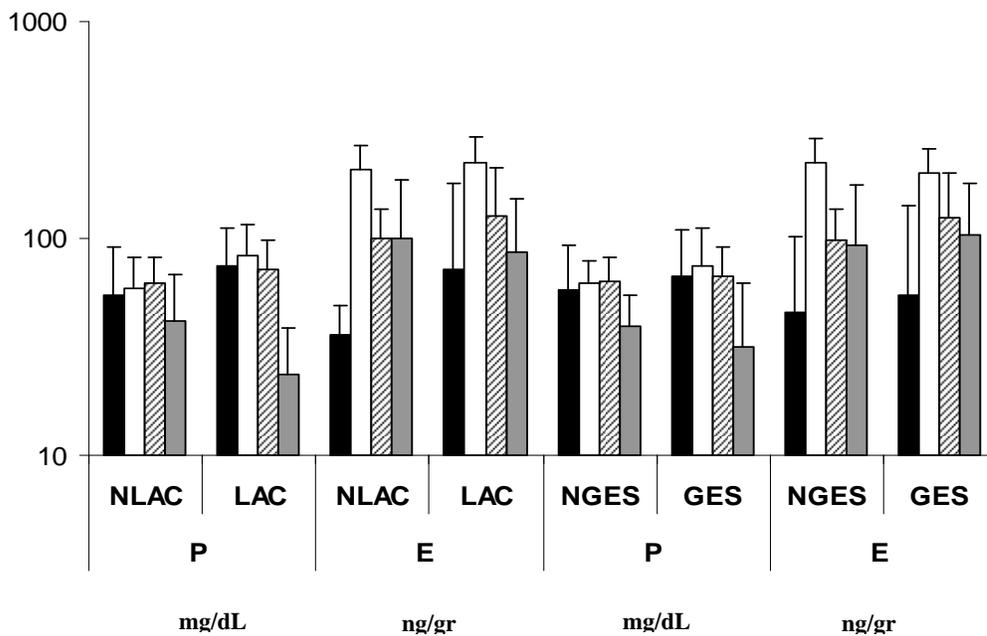


Figura 9. Concentraciones de IMI (glucosa: columnas negras; trigliceridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en hembras de *P. difficilis* en diferentes condiciones asociadas a la reproducción (NLAC = no lactantes, LAC = lactantes, NGES = no gestantes, GES = gestantes). P = concentración de los IMI en plasma; E = concentración de los IMI en excretas.

8.4. *Peromyscus melanotis*.

8.4.1. Comparación entre localidades.

Debido a que algunos ejemplares de *P. melanotis* fueron capturados en la localidad ubicada en el Parque Nacional Cumbres del Ajusco (PNCA), se compararon sus niveles de IMI con los capturados en el Parque Nacional Desierto de los Leones (PNDL). Se observaron diferencias significativas entre estas dos poblaciones cuando se realizaron muestreos en los dos sitios; en la primavera en glucosa, triglicéridos y colesterol en plasma (Glu: $T = 3.30$; $P = 0.003$; Tri: $T = -3.25$; $P = 0.004$; Col: $T = -3.14$; $P = 0.005$), y en el verano en la concentración de glucosa en plasma (Glu: $T = 2.28$; $P = 0.04$) (Figura 10).

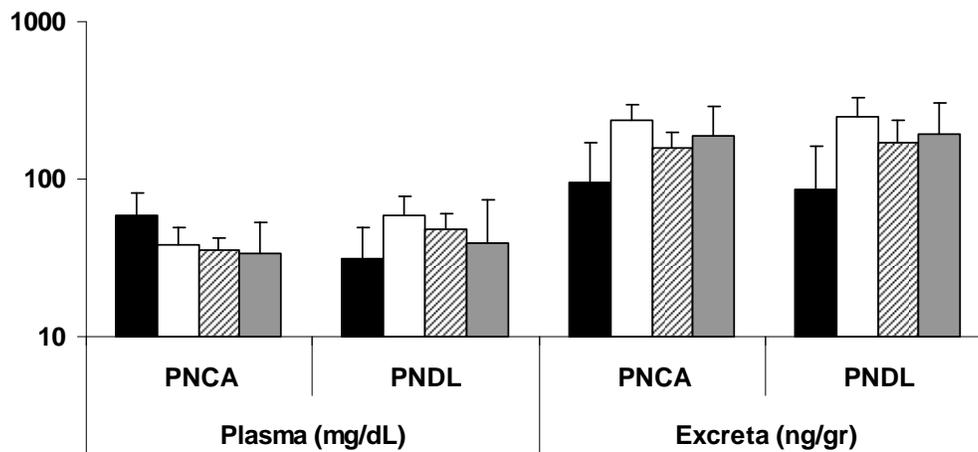


Figura 10. Concentración plasmática de IMI (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en dos poblaciones (PNCA = Ajusco; PNDL = Desierto de los Leones) de *P. melanotis*.

Una vez que se comprobó que las poblaciones de *P. melanotis* se comportan de forma distinta, se analizó a la población del PNDL de la misma forma en que se realizó el análisis de *P. difficilis*.

8.4.2. Comportamiento mensual de IMI.

En esta especie, los cuatro IMI en plasma mostraron variaciones significativas de forma mensual (Glu: $H = 26.47$; $P = 0.001$; Tri: $H = 31.32$; $P = 0.0002$; Col: $F = 10.54$; $P < 0.0001$; Ure: $H = 23.49$; $P = 0.005$).

Apreciamos un comportamiento muy parecido al encontrado en *P. difficilis*, una vez más la glucosa, los triglicéridos y el colesterol se comportan de forma similar, se observa claramente que en mayo y julio los dos IMI presentan sus niveles inferiores y aumentando hasta alcanzar sus máximos niveles en septiembre, en el caso de la glucosa y el colesterol, y en noviembre, para los triglicéridos. Por su parte, la concentración de urea, presenta de forma significativa bajos niveles en los meses de marzo, noviembre y febrero, para iniciar su ascenso en mayo y alcanzar su pico en los meses de mayo y julio (Figura 11).

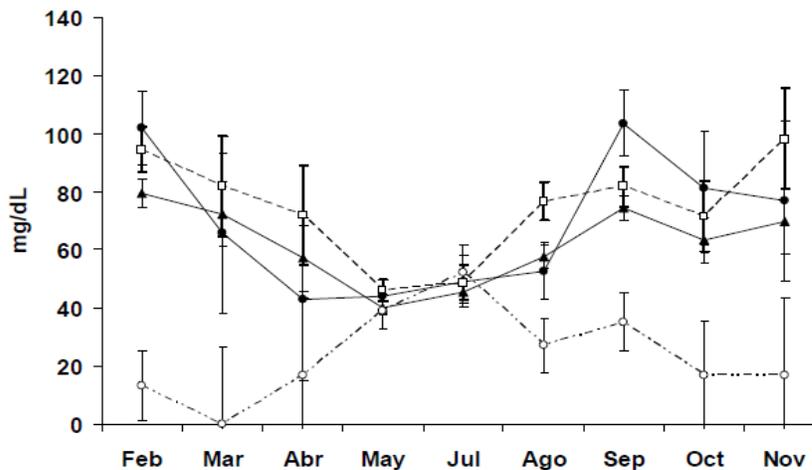


Figura 11. Comportamiento mensual de la concentración en plasma de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○), en *P. melanotis*.

Por su parte, el contenido en excretas de los diferentes IMI mostró variación significativa, excepto en los triglicéridos (Glu: $H = 31.75$; $P = 0.0002$; Tri: $H = 8.49$; $P = 0.48$; Col: $H = 36.71$; $P < 0.0001$; Ure: $H = 25.76$; $P = 0.002$). Una vez más en mayo se presentaron picos en el contenido de glucosa, con otro pico en octubre, triglicéridos,

manteniéndose constante hasta caer en abril, y urea, que muestra un comportamiento trimodal con otros dos picos en agosto y noviembre (Figura 12).

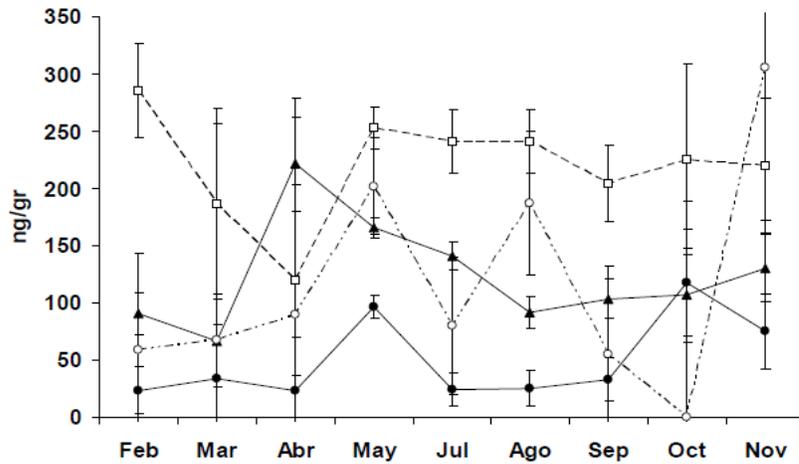


Figura 12. Comportamiento mensual de la concentración en excretas de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○), en *P. melanotis*.

8.4.3. Comportamiento estacional de IMI.

En términos generales los perfiles estacionales de los indicadores, en *P. melanotis*, son similares a los encontrados en *P. difficilis*, salvo en primavera, donde los tres primeros IMI son superiores en esta última especie (Figura 13).

En el plasma los cuatro IMI presentan diferencias significativas a lo largo de las estaciones (Glu: $H = 23.9$; $P < 0.0001$; Tri: $H = 20.92$; $P = 0.0001$; Col: $H = 29.98$; $P < 0.0001$; Ure: $H = 10.50$; $P = 0.01$). Al igual que en el comportamiento mensual, las glucosa, los triglicéridos y el colesterol muestran un paralelismo en sus perfiles estacionales, mientras la urea se presenta de forma totalmente distinta.

Solo los triglicéridos no variaron significativamente en excretas (Glu: $H = 22.17$; $P < 0.0001$; Tri: $H = 45.25$; $P = 0.92$; Col: $H = 20.23$; $P = 0.0001$; Ure: $H = 14.97$; $P = 0.002$), observando un comportamiento inverso al encontrado en plasma, excepto en los triglicéridos y la urea (Figura 13).

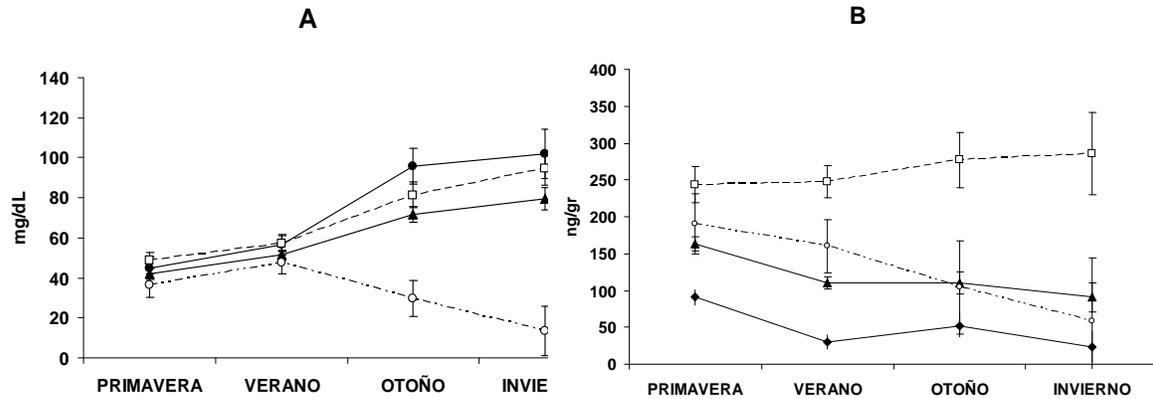


Figura 13. Comportamiento estacional de la concentración en plasma (A) y excretas (B) de glucosa (●), triglicéridos (□), colesterol (▲) y urea (○) en *P. melanotis*.

8.4.4. Comparación intersexual en *P. melanotis*.

Al analizar la concentración de los diferentes IMI, no encontramos, salvo la urea en plasma ($Z = 2.51$; $P = 0.012$), diferencias significativas entre machos y hembras, al igual que en *P. difficilis*, tanto estacional como mensualmente. Sin embargo, observamos que a diferencia de *P. difficilis*, en esta especie las hembras muestran una tendencia a presentar más glucosa y triglicéridos que los machos (Figura 14).

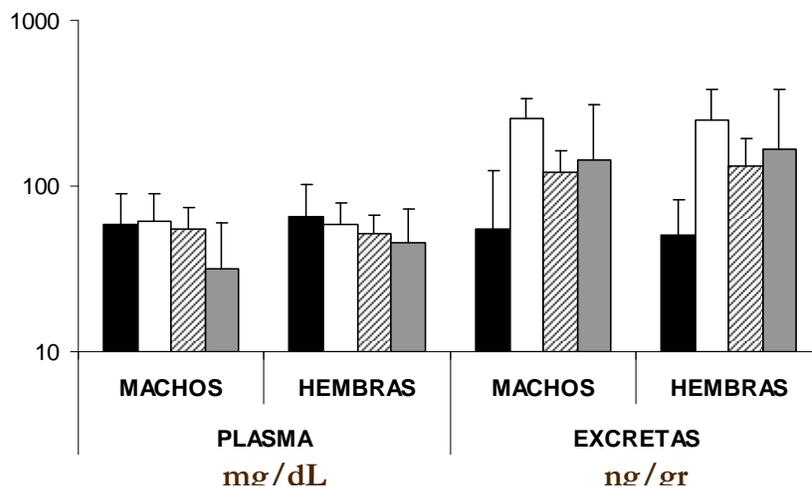


Figura 14. Concentración de diferentes IMI en machos y hembras de *P. melanotis*; glucosa (columnas negras), triglicéridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises). Los resultados están expresados en escala

8.4.5. Reproducción en machos.

Variación estacional del peso testicular. Al igual que *P. difficilis*, esta especie se reproduce durante todo el año, sin embargo, sabemos que muestra un pico en verano (Salame-Méndez *et al.* 2004).

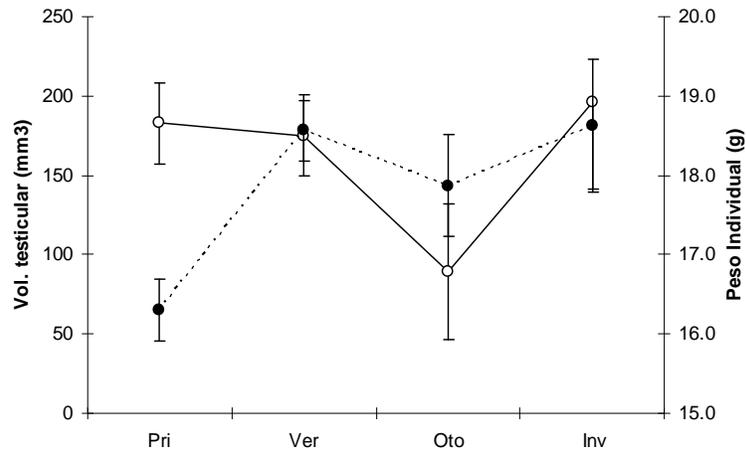
Aunque el patrón registrado es parecido al encontrado en *P. difficilis*, observamos que en *P. melanotis* el peso de los testículos, aún sin mostrar variación estacional significativa, en el verano es muy superior con respecto a *P. difficilis*, lo que corresponde con lo conocido hasta ahora de la especie en esa localidad ($F = 1.37$; $g.l. = 3$; $P = 0.26$) (Figura 15).

También es interesante notar que aún cuando en el otoño las dos especies presentaron mayor cantidad de IMI, los testículos en ambas fueron significativamente más pequeños.

Variación estacional del peso individual. El análisis de regresión lineal muestra una relación directa entre el peso total del individuo y el volumen testicular ($T = 7.62$; $g.l. = 33$; $P = 0.000$; $R^2 = 0.65$), por lo que, al igual que en *P. difficilis*, se realizó un análisis de covarianza para observar el comportamiento del peso de forma estacional, sin considerar la variación debida al largo total y su relación con el volumen de los testículos ($F = 0.56$; $g.l. = 3$; $P = 0.64$).

Existen diferencias claras con respecto al peso de *P. melanotis* y el encontrado en *P. difficilis*. En el verano, estación en la cual sabemos que alcanza su pico reproductor, en promedio los machos pesan menos con respecto a las otras estaciones. El invierno es la estación en la cual el peso individual alcanza su máximo (Figura 15).

Figura 15. Comportamiento estacional del peso total (línea punteada) y el volumen testicular (línea continua) en machos de *P. melanotis*.



8.4.6. Reproducción en hembras.

Estado de lactación. En las hembras lactantes y las no lactantes de *P. melanotis* existen diferencias significativas en los cuatro IMI, ya sea en plasma (Glu: $T = 0.44$; $P = 0.66$; Tri: $T = 3.06$; $P = 0.006$; Col: $Z = 2.46$; $P = 0.01$; Ure: $T = -1.07$; $P = 0.29$), o en excretas (Glu: $Z = -2.19$; $P = 0.028$; Tri: $Z = -0.49$; $P = 0.62$; Col: $Z = -0.43$; $P = 0.76$; Ure: $T = -2.24$; $P = 0.03$). Notamos que a diferencia de lo visto en *P. difficilis*, los IMI, excepto la urea, son superiores en las hembras no lactantes (Figura 16).

Estado de gestación. Las hembras gestantes no presentaron diferencias significativas con las no gestantes, la glucosa en promedio fue superior en las hembras gestantes, esto es coincidente con lo visto en *P. difficilis* (Figura 16).

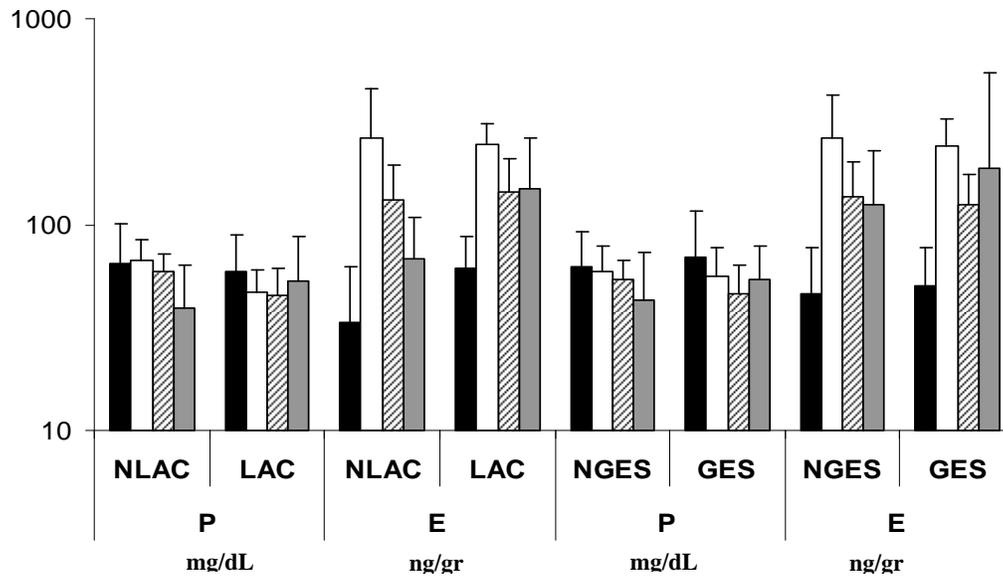


Figura 16. Concentración plasmática de IMI (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises) en hembras de *P. melanotis* en diferentes condiciones asociadas a la reproducción (NLAC = no lactantes, LAC = lactantes, NGES = no gestantes, GES = gestantes). P = concentración de los IMI en plasma; E = concentración de los IMI en excretas.

8.5. DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS.

8.5.1. Patrones generales.

Una de las hipótesis plantea las posibles diferencias entre *P. difficilis* y *P. melanotis* debidas al tamaño y al desarrollo evolutivo de cada especie. Si se consideran a todos los individuos que componen las muestras de las poblaciones de ambas especies, a lo largo del proyecto, se observan diferencias significativas en plasma (Glu: $Z = -0.50$; $P = 0.61$; Tri: $T = -3.14$; $P = 0.001$; Col: $Z = -3.88$; $P = 0.0001$; Ure: $Z = 1.85$; $P = 0.06$) y en excretas (Glu: $Z = 0.78$; $P = 0.43$; Tri: $Z = 1.58$; $P = 0.11$; Col: $Z = 2.31$; $P = 0.02$; Ure: $Z = 3.23$; $P = 0.001$) (Figura 17).

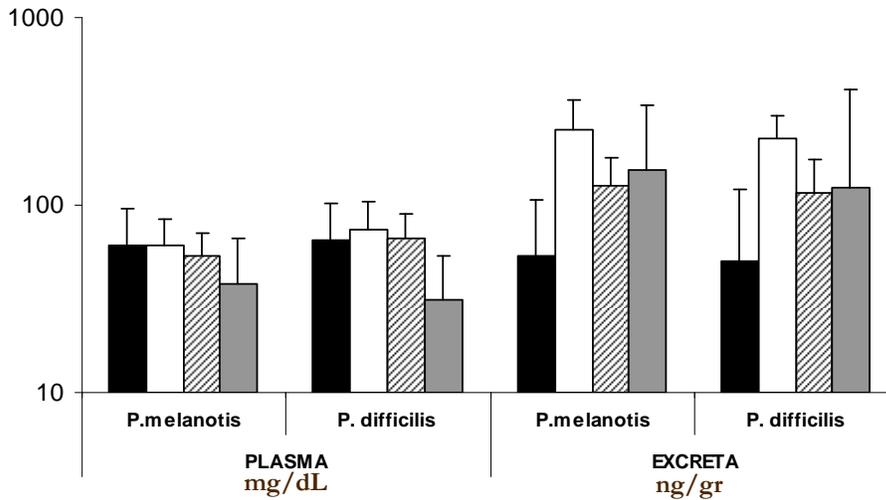


Figura 17. Comparación entre las dos especies de *Peromyscus* respecto a las concentraciones en plasma y excreta de diferentes IMI; glucosa (columnas negras), triglicéridos (columnas blancas), colesterol (columnas rayadas) y urea (columnas grises).

8.5.2. Comportamiento estacional.

Primavera. La concentración en plasma de colesterol, muestra diferencias significativas en la primavera (Col: $Z = -2.6919$; $g.l. = 1$; $P < 0.007106$), siendo, al igual que la glucosa y los triglicéridos ($P > 0.05$), superior en *P. difficilis*. Por su parte la urea fue mayor en *P. melanotis*, aunque esta diferencia no es significativa ($P > 0.05$). Ningún IMI en excretas mostró diferencias significativas, sin embargo, es posible observar que *P. melanotis* los deshecha en mayor cantidad (Figura 18). Cabe señalar que solo en esta estación los niveles de los IMI son superiores en *P. difficilis*, lo que parece coincidir con las necesidades energéticas de esta especie, cuyo pico reproductor ocurre en la primavera.

Verano. En esta estación el comportamiento es similar al observado en primavera, sin embargo solo el colesterol en excretas muestra diferencias significativas ($Z = -2.62$; $g.l. = 1$; $P = 0.008$) (Figura 18).

Otoño. En esta estación todos los IMI, excepto la urea plasmática, fueron superiores en *P. melanotis*. En el plasma, solo la glucosa presentó diferencias significativas ($Z = 2.36$; $g.l. = 1$; $P = 0.017$), siendo muy superior en *P. melanotis*, mientras que en excretas el

colesterol fue significativamente inferior en *P. difficilis* ($t = 2.56$; $g.l. = 1$; $P = 0.014$) (Figura 18).

Invierno. Durante esta estación ningún indicador mostró diferencias significativas ($P > 0.05$), sin embargo podemos apreciar que las concentraciones plasmáticas son superiores en *P. melanotis* con respecto a *P. difficilis* (Figura 18).

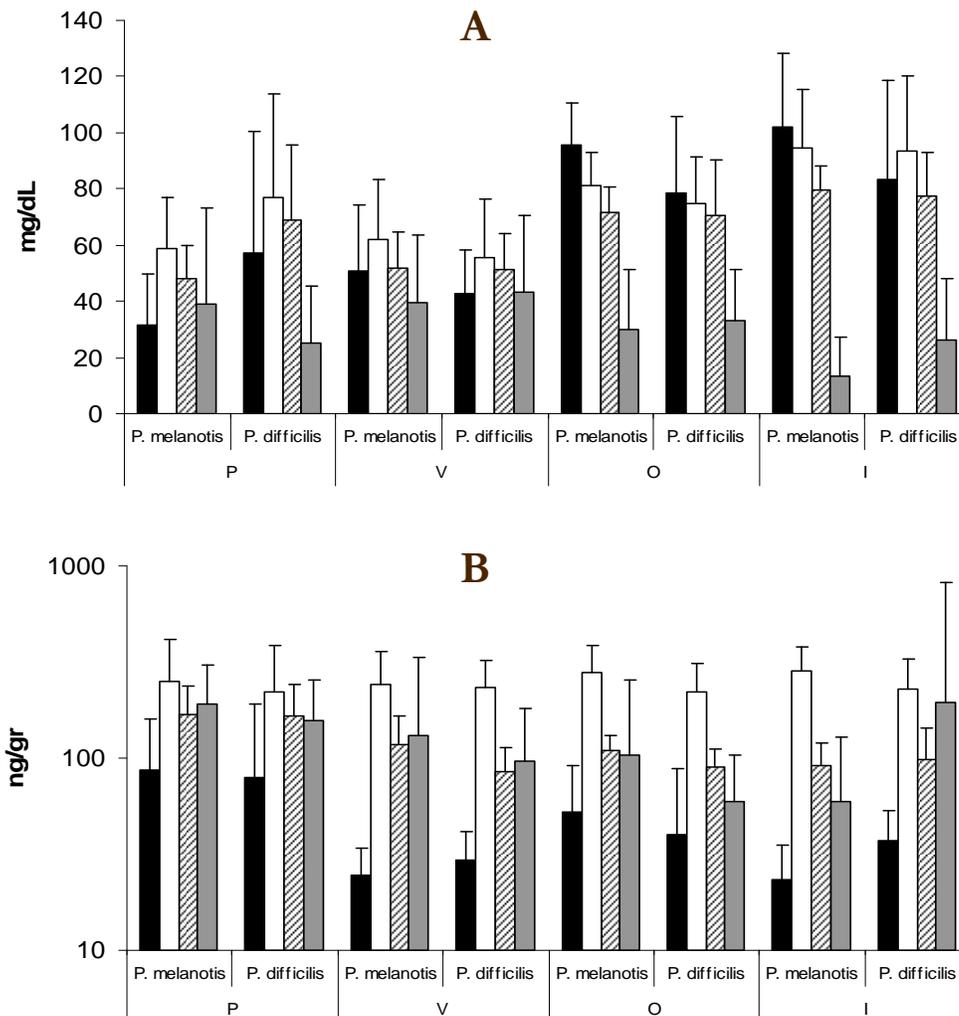


Figura 18. Comparación estacional en la concentración en plasma (A) y excretas (B) de IMI en las dos especies de *Peromyscus* que habitan un bosque templado (glucosa: columnas negras; triglicéridos: columnas blancas; colesterol: columnas rayadas; urea: columnas grises).

8.6. VARIACIÓN AMBIENTAL Y METABOLISMO INTERMEDIARIO.

Al observar el comportamiento de diferentes variables ambientales, temperatura registrada en el campo (T.C.), humedad relativa registrada en el campo (H.R.C.), altitud (ALT), temperatura oficial (T.O.), humedad relativa oficial (H.R.O.) y horas luz (H.Luz), apreciamos variaciones significativas de manera estacional (T.O.: $H = 133.05$; $P < 0.0001$; T.C.: $H = 67.22$; $P < 0.0001$; H. Luz: $H = 134.24$; $P < 0.0001$; H.R.O.: $H = 53.40$; $P < 0.0001$; H.R.C.: $H = 20.09$; $P = 0.0001$; ALT.: $H = 21.12$; $P < 0.0001$). Los datos oficiales utilizados corresponden a los días exactos en que fueron capturados los ejemplares, obteniendo las cifras de la estación meteorológica 766800, ubicada al oeste de la ciudad, la más cercana a las áreas de estudio (TUTTIEMPO NETWORK 2009) (Figura 19).

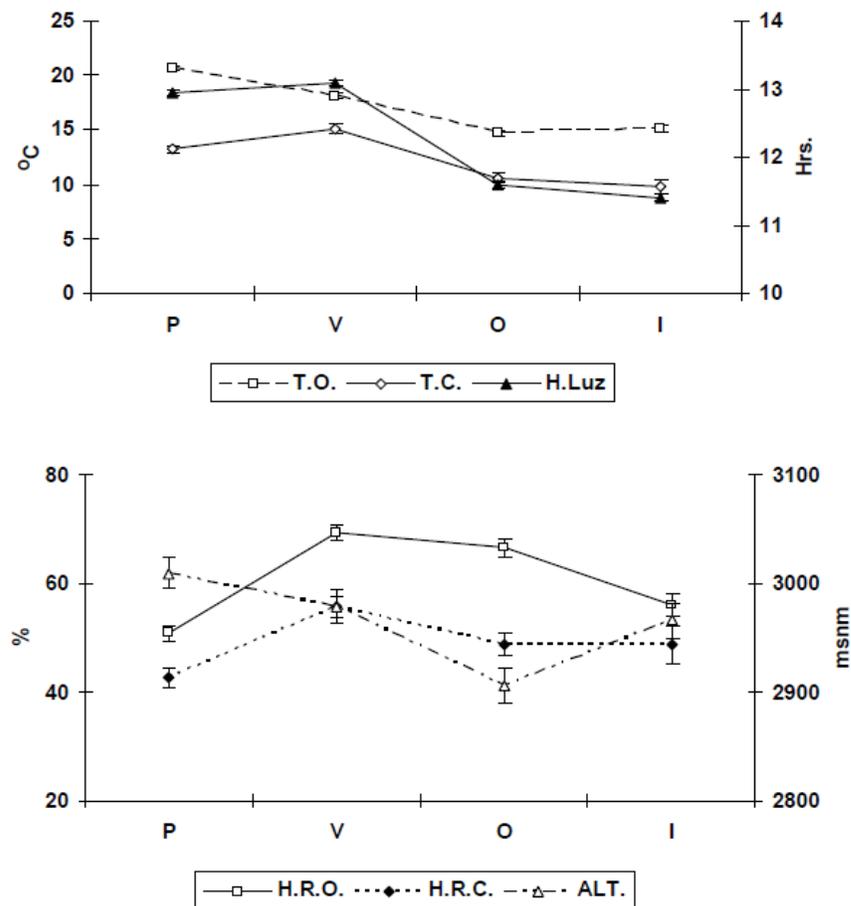


Figura 18. Comportamiento estacional de diferentes variables ambientales en las localidades de estudio, desde mayo del 2008 hasta abril del 2009. T.O. ($^{\circ}\text{C}$): temperatura registrada por la estación meteorológica 007662; T.C. ($^{\circ}\text{C}$): temperatura registrada en el campo; H.Luz (Hrs.): números de horas luz al día; H.R.O. (%): humedad relativa registrada por la estación 007662; H.R.C. (%): humedad relativa registrada en el campo; ALT (msnm): altitud.

Debido a que los datos no se comportan de forma normal, se realizaron matrices de correlación de Spearman (prueba estadística no-paramétrica) para corroborar las posibles relaciones entre los IMI y las variables climáticas registradas. Se observa que todos los indicadores del metabolismo energético cuantificados en el plasma de *P. melanotis*, muestran correlaciones significativas y negativas con la temperatura registrada por la estación meteorológica 766800. Por el contrario, las relaciones significativas en la concentración en excretas son positivas (*i. e.* glucosa y urea). De igual forma, la glucosa, los triglicéridos y el colesterol, están correlacionados de forma negativa con las horas luz y la luz visible del día, registrados por la misma estación (Cuadro 4).

Los datos registrados en el campo mostraron correlaciones significativas con los IMI de *P. difficilis*. Como en la otra especie, también fueron negativas las relaciones con significancia estadística, entre la glucosa, los triglicéridos y el colesterol plasmáticos (Cuadro 4). Estos resultados, fortalecen la idea sobre la importancia de la temperatura en la regulación metabólica de ambas especies.

8.7. CORRELACIONES ENTRE IMI PLASMÁTICOS E IMI FECALES.

Tanto para *P. melanotis* como para *P. difficilis*, los diversos IMI mostraron correlaciones negativas entre lo encontrado en el plasma y lo hallado en excretas, salvo la urea que presentó correlaciones positivas en ambas especies de ratones. Estas relaciones fueron significativas en el colesterol de *P. melanotis* (Cuadro 5), y en la glucosa, los triglicéridos y la urea de *P. difficilis* (Cuadro 6). Estos datos permiten suponer que es posible establecer las bases para realizar estudios, en estos y otros ratones de campo, utilizando métodos no-invasivos (Valdespino *et al.* 2007).

T.O.	1.000 0.000														
H.R.O.	-0.381 0.001	1.000 0.000													
L.V.	0.352 0.003	0.038 0.758	1.000 0.000												
H.L.	0.398 0.001	0.061 0.619	0.989 0.000	1.000 0.000											
T.C.	-0.018 0.884	0.571 0.000	0.175 0.154	0.237 0.052	1.000 0.000										
H.R.C.	-0.161 0.189	0.383 0.001	-0.071 0.565	-0.070 0.573	-0.031 0.804	1.000 0.000									
GLUP	-0.241 0.055	-0.204 0.107	-0.439 0.000*	-0.392 0.001*	-0.087 0.496	-0.011 0.931	1.000 0.000								
TRIP	-0.542 0.000*	-0.100 0.442	-0.554 0.000*	-0.609 0.000*	-0.181 0.162	0.066 0.614	0.339 0.008	1.000 0.000							
COLP	-0.533 0.000*	-0.245 0.053	-0.531 0.000*	-0.570 0.000*	-0.232 0.067	0.025 0.848	0.601 0.000	0.718 0.000	1.000 0.000						
UREP	0.127 0.322	-0.003 0.980	0.585 0.000*	0.575 0.000*	0.041 0.748	-0.084 0.513	-0.279 0.028	-0.475 0.000	-0.421 0.001	1.000 0.000					
GLUX	0.392 0.001*	-0.100 0.432	0.008 0.947	0.002 0.987	-0.160 0.207	-0.102 0.424	-0.172 0.184	-0.200 0.131	-0.342 0.007	0.010 0.941	1.000 0.000				
TRIX	-0.002 0.991	0.118 0.366	0.102 0.435	0.083 0.527	-0.060 0.648	0.024 0.852	0.077 0.565	-0.107 0.437	-0.023 0.863	0.067 0.622	0.389 0.002	1.000 0.000			
COLX	0.171 0.181	0.193 0.130	0.221 0.081	0.222 0.081	0.269 0.033*	-0.033 0.797	-0.183 0.166	-0.343 0.010	-0.440 0.001**	0.136 0.308	0.377 0.003	0.077 0.563	1.000 0.000		
UREX	0.384 0.002*	-0.019 0.880	0.232 0.065	0.227 0.072	-0.028 0.828	-0.178 0.158	-0.395 0.002	-0.359 0.006	-0.362 0.005	0.249 0.057	0.530 0.000	0.184 0.160	0.234 0.064	1.000 0.000	
	T.O.	H.R.O.	L.V.	H.L.	T.C.	H.R.C.	GLUP	TRIP	COLP	UREP	GLUX	TRIX	COLX	UREX	

Cuadro 5. Matriz de correlaciones de Spearman, entre variables ambientales e IMI en *P. melanotis*. Los indicadores están seguidos por una letra P (plasma) o X (excretas). La nomenclatura de las variables climáticas es la misma que la utilizada en la figura 18. Se muestran las correlaciones significativas entre variables ambientales e IMI *, y entre lo cuantificado en plasma y en excretas**, en cada indicador.

T.O.	1.000 0.000														
H.R.O.	-0.419 0.000	1.000 0.000													
L.V.	0.701 0.000	0.090 0.321	1.000 0.000												
H.L.	0.701 0.000	0.090 0.321	1.000 0.000	1.000 0.000											
T.C.	0.414 0.000	0.058 0.534	0.515 0.000	0.515 0.000	1.000 0.000										
H.R.C.	-0.181 0.064	0.474 0.000	0.283 0.003	0.283 0.003	-0.291 0.003	1.000 0.000									
GLUP	-0.388 0.000*	-0.200 0.037*	-0.500 0.000*	-0.500 0.000*	-0.351 0.000*	-0.144 0.157	1.000 0.000								
TRIP	-0.160 0.102	-0.321 0.001*	-0.392 0.000*	-0.392 0.000*	-0.346 0.000*	-0.223 0.029*	0.548 0.000	1.000 0.000							
COLP	-0.179 0.061	-0.420 0.000*	-0.504 0.000*	-0.504 0.000*	-0.190 0.046*	-0.497 0.000*	0.619 0.000	0.635 0.000	1.000 0.000						
UREP	-0.078 0.419	0.346 0.000*	0.153 0.112	0.153 0.112	0.065 0.500	0.382 0.000*	-0.411 0.000	-0.550 0.000	-0.397 0.000	1.000 0.000					
GLUX	0.153 0.107	-0.101 0.289	-0.015 0.873	-0.015 0.873	-0.136 0.156	-0.138 0.173	-0.251 0.010**	-0.050 0.624	-0.093 0.346	0.072 0.465	1.000 0.000				
TRIX	-0.095 0.331	0.254 0.008*	0.012 0.899	0.012 0.899	-0.012 0.900	0.126 0.219	-0.149 0.134	-0.229 0.026**	-0.180 0.073	0.086 0.400	0.330 0.001	1.000 0.000			
COLX	0.289 0.003*	-0.144 0.139	0.214 0.027*	0.214 0.027*	-0.141 0.146	-0.075 0.468	-0.093 0.354	0.088 0.394	-0.015 0.884	-0.104 0.304	0.291 0.002	0.028 0.783	1.000 0.000		
UREX	0.219 0.021*	0.146 0.127	0.361 0.000*	0.361 0.000*	0.063 0.515	0.205 0.042*	-0.536 0.000	-0.262 0.008	-0.433 0.000	0.267 0.006**	0.133 0.167	0.067 0.499	0.356 0.000	1.000 0.000	
	T.O.	H.R.O.	L.V.	H.L.	T.C.	H.R.C.	GLUP	TRIP	COLP	UREP	GLUX	TRIX	COLX	UREX	

Cuadro 6. Matriz de correlaciones de Spearman, entre variables ambientales e IMI en *P. difficilis*. Los indicadores están seguidos por una letra P (plasma) o X (excretas). La nomenclatura de las variables climáticas es la misma que la utilizada en la figura 18. Se muestran las correlaciones significativas entre variables ambientales e IMI *, y entre lo cuantificado en plasma y en excretas**, en cada indicador.

IX. DISCUSIÓN.

9.1. PATRONES GENERALES.

CDI. La demanda energética de los organismos homeotermos, entre ellos los pequeños roedores, debe ser satisfecha a través del consumo de alimento que aporte los nutrientes necesarios para cubrir sus necesidades metabólicas (Grodzinski y Wunder 1975; Petes 1983). Los individuos de diferentes edades dentro de una misma población, presentan variaciones en las tasas metabólicas específicas, ya que difieren en tamaño, tasa de crecimiento y madurez sexual (Grodzinski y Wunder 1975; Peters 1983; Moyes y Schulte 2007). Por consiguiente estas diferencias implican que el consumo de alimento puede variar para cubrir las necesidades específicas de cada grupo de edad (Grodzinski y Wunder 1975). El comportamiento en los perfiles de IMI en ratones CD1, podría explicarse por la diferencia en la alimentación de este grupo de individuos, ya que los organismos pertenecientes a la CE I (juveniles), de 3 y 4 semanas de edad son animales recientemente destetados, lo cual podría explicar el nivel elevado de colesterol. Por su parte, los individuos de las CE II y III mantienen una alimentación controlada, sin diferencias importantes entre ellos, con un mismo tipo de alimento balanceado (Purina[®]) y agua *ad libitum*, por lo que no se encuentran diferencias significativas entre ellos.

Ahora bien, al recaer la reproducción de manera importante en los individuos adultos, podría pensarse que la demanda energética de estos es mayor con respecto a los subadultos, y por lo tanto presentar diferencias significativas en la concentración de IMI. Sin embargo, estos últimos están en etapas de desarrollo y por lo tanto, podrían necesitar cantidades de energía similares, para la construcción muscular y el crecimiento corporal, a los que ocupan los individuos adultos en la reproducción; los niveles superiores de urea en los ratones de la CE III, podría soportar esta hipótesis ya que esta es resultado del

metabolismo de las proteínas, principales componentes de la masa muscular de este grupo de individuos.

P. difficilis. Tanto la glucosa, como el colesterol y los triglicéridos, en plasma, presentan perfiles similares de forma mensual y estacional, esto podría explicarse por las interacciones metabólicas que existen entre estos indicadores, ya que tanto los triglicéridos, como el colesterol, pueden ser producto de la dieta y de la biotransformación de la glucosa (Garrido *et al.* 2005). Se observa claramente un decremento de la concentración presente en los primeros meses del año hacia mayo, en donde se dan los valores significativamente más bajos, para posteriormente presentar un incremento paulatino hasta alcanzar sus segundos picos; en septiembre, en el caso de los triglicéridos y el colesterol, y en octubre, para la glucosa. La urea es el único indicador que se comporta de forma distinta, ya que no es directa la relación con el metabolismo de la glucosa. Es probable que el incremento de urea en la primera parte del año, particularmente en el húmedo verano, responda a la abundancia de hongos, ya que se sabe que son un complemento alimenticio común en pequeños mamíferos de zonas boscosas y los cuales se caracterizan por su riqueza proteica (North *et al.* 1997). Esto, aunado a la ingesta del nitrógeno contenido en las plantas que componen su dieta (Mattson 1980), permitiría el incremento en la masa muscular, tan importante en la competencia reproductora entre los machos de esta especie, así como facilitaría el transporte de los compuestos lipídicos fundamentales en la reproducción (*i. e.* el colesterol como materia prima de hormonas sexuales) (Garrido *et al.* 2005; Moyes y Schulte 2007). Llama la atención el incremento en la concentración de estos indicadores en la excreta, hacia el mes de mayo. Ya que este es uno de los meses en que los niveles plasmáticos son significativamente inferiores; es probable que este comportamiento, sobre todo en lo

referente a la glucosa y los triglicéridos, responda a la forma en que se desechan y no tanto a la incapacidad de adquirir el alimento.

El comportamiento estacional de los indicadores del metabolismo energético, es similar a lo visto en otras especies de pequeños roedores (Sealander 1951; Hayward 1965; Sawicka-Kapusta 1968; Fleharty *et al.* 1973; Lynch 1973), incluyendo algunos representantes del género como *P. maniculatus* (Fleharty *et al.* 1973). Tanto la glucosa, como los triglicéridos y el colesterol muestran elevados niveles en la última época del año, otoño e invierno, donde las condiciones climáticas se caracterizan por un frío extremo, lo que por un lado impacta de forma negativa la productividad del bosque, y por el otro somete a una fuerte presión ambiental a los organismos estudiados. Todo parece indicar que la respuesta adaptativa de estos ratones de campo se basa en incrementar su ingesta de carbohidratos y lípidos, o reducir el metabolismo energético, por ejemplo manteniendo niveles bajos de actividad, lo que les permite soportar las condiciones adversas.

De forma estacional, el contenido de IMI en excretas, muestra una tendencia diferente y claramente inversa a la concentración plasmática. A excepción de los triglicéridos, los valores significativamente más bajos de los indicadores del metabolismo energético, se dan en la última parte del año y a partir del verano; esto confirma que las necesidades energéticas aumentan de manera drástica en esta época y por lo tanto, los organismos estudiados tienden a utilizar estos metabolitos en lugar de desecharlos. De igual forma, la urea, el indicador del metabolismo proteico, exhibe una tendencia inversa en la excreta, ya que presenta niveles elevados en la primavera y el invierno, estaciones en las que el indicador se encuentra en concentraciones bajas en el plasma; hay que considerar que este indicador, por ser un producto final del catabolismo proteico, al ser cuantificado en

la excreta refleja, al contrario de lo que sucede con los demás IMI, el uso potencial de las proteínas y no precisamente lo que desechan.

Es de esperar que el papel de cada sexo asociado a la reproducción, se refleje en diferencias metabólicas (Peters 1983). Los IMI no reflejaron diferencias entre sexos, por lo cual es posible que aún cuando se podrían alimentar de forma diferente, su metabolismo es similar y responden de igual forma a la presión ambiental; demostrando que el propio ambiente, particularmente la temperatura, juega un papel regulador en la demanda energética de esta especie. Esta misma respuesta metabólica entre sexos distintos se observó en *P. melanocarpus*, en un bosque mesófilo de la Sierra Madre de Oaxaca (Valdez-Gómez 2009).

Dicha regulación está por encima incluso del efecto que tienen los procesos reproductores de la población en los perfiles de IMI. Esto puede apreciarse al analizar el comportamiento de los machos; en base a la variación en el volumen testicular (*e. g.* un indicador de la condición reproductora en pequeños roedores), podemos observar que los machos de *P. difficilis* se reproducen con mayor eficiencia en la primera mitad del año, particularmente en la primavera, lo que es consistente con lo estudiado hasta el momento en esa población. A pesar de esto los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos son significativamente más bajos en esta época, con respecto al otoño y al invierno.

También es notable el incremento en el peso de los machos en el invierno, lo cual es consistente con lo observado en los diferentes IMI, si consideramos que los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol son significativamente superiores y la urea se encuentra en cantidades intermedias en esta época. Es probable que al no verse sujeto a la presión propia de la reproducción el organismo pueda almacenar la energía necesaria, posiblemente en forma de grasas, lo que además le representa un aislante natural contra el frío (Sealander

1951; Hayward 1965; Sawicka-Kapusta 1968; Fleharty *et al.* 1973; Lynch 1973) para soportar el estrés producido por el ambiente y prepararse al mismo tiempo para los eventos reproductores que se llevarán a cabo desde el invierno hasta la primavera.

Por su parte, las hembras mostraron diferencias cuando se les agrupó en lactantes y no lactantes, siendo superiores los niveles de IMI en las primeras, con respecto a las segundas. Las implicaciones son evidentes, ya que esto podría satisfacer las necesidades nutricionales de las crías alimentadas con la leche materna. Esto también podría explicar la elevada cantidad de colesterol en los ratones juveniles machos de la cepa CD1, que fue analizada, ya que su alimentación se basa en el aporte energético de la leche materna.

La lactación esta asociada a la mayor masa de los órganos de procesamiento central y al incremento de la tasa de ingesta de glucosa (Derting y Hornung 2003). Es probable que la captación de energía en las hembras lactantes sea el factor principal para determinar el crecimiento de los jóvenes. En algunas especies de ratones silvestres las hembras lactantes incrementan en un 45% la ingesta energética en relación con las hembras no reproductoras (Degen *et al.* 2002), lo que podría explicar las diferencias observadas en esta población de *P. difficilis*.

Peromyscus melanotis. Debido a las diferencias encontradas en las dos poblaciones de *P. melanotis* estudiadas, es posible que, tanto la composición taxonómica y nutrimental de la dieta (*i. e.* calidad), así como la abundancia (*i. e.* cantidad), sean significativamente distintas entre localidades. A diferencia de lo encontrado por Valdez-Gómez (2009) en *P. melanocarpus*, que responde de manera similar en un sitio conservado y uno alterado, *P. melanotis* parece alterar su comportamiento metabólico, según las condiciones ambientales que le rodean. Sin embargo, hay que considerar que el muestreo en el PNCA fue tan limitado, que no podemos llegar a ninguna conclusión sólida respecto a esta hipótesis.

Al observar que *P. melanotis* probablemente se comporta metabólicamente de forma distinta en el PNDL, y debido a que solo en esta localidad se obtuvo el muestreo anual para esta especie, se analizó el comportamiento estacional y se comparó a esta población con *P. difficilis*. En lo general, el comportamiento de las dos especies es muy similar a lo largo del año. *P. melanotis*, al igual que *P. difficilis*, mostró niveles muy superiores en los indicadores del metabolismo energético (*i. e.* glucosa, triglicéridos y colesterol), hacia el otoño y el invierno. Siendo significativamente inferiores en la primera mitad del año (primavera y verano). De la misma forma, el perfil estacional de la urea en el plasma, nos indica que probablemente sea el verano la época en que el ambiente presenta los recursos más ricos en nitrógeno, momento en el cual estas especies aprovechan estos recursos para satisfacer sus necesidades proteicas.

De forma mensual, se observa un decremento significativo en glucosa, colesterol y triglicéridos (que presentan perfiles muy similares) hacia los meses de mayo y julio. Sin embargo, no parece ser un problema de ingesta, ya que en la excreta se presenta un pico más elevado, al igual que en *P. difficilis*.

Por otra parte, las hembras presentaron significativamente mayor cantidad de urea que los machos, sin embargo, de la misma forma que *P. difficilis*, no se presentaron diferencias en los indicadores del metabolismo energético. Estos resultados, refuerzan la idea de la importancia del ambiente en la regulación de las necesidades energéticas, ya que las diferencias en el rol sexual no parecen tener ningún impacto en la fluctuación de los IMI analizados.

Sabemos que *P. melanotis* tiene la capacidad de reproducirse durante todo el año, al igual que *P. difficilis*, sin embargo, muestra su pico reproductor en el verano (Salame-Méndez *et al.* 2004), mostrando así una estrategia que diferencia sus nichos de forma

reproductora, y evita toda competencia en etapas de crianza y etapas tempranas del desarrollo individual. El perfil del volumen testicular de las dos especies muestra un importante decremento en el otoño, lo que indica que en esta época la reproducción, a pesar de darse incluso bajo estas condiciones, se ve afectada de manera negativa y la presión ambiental impacta a ambas poblaciones. Es probable que el cambio drástico de las condiciones climáticas se manifieste en esta estación del año, y para el invierno, aún cuando la temperatura sigue siendo baja, la capacidad metabólica de cada especie les permita reestablecer sus procesos reproductores, ya que el volumen testicular aumenta notablemente en la última estación del año, tanto en *P. difficilis* como en *P. melanotis*.

Al mismo tiempo que el volumen testicular desciende, la magnitud del peso corporal muestra un incremento significativo en esta especie. Podemos decir que al igual que *P. difficilis*, este peso es en gran proporción debido al almacenamiento de energía en forma de grasas, para soportar la hostilidad del otoño y el invierno, ya que los bajos niveles de urea encontrados, tanto en sangre como en heces, en esta época sugieren una dieta baja en proteínas, o en su defecto un metabolismo más eficiente de estas estructuras, por lo que la masa muscular no debe ser muy elevada (Randall *et al.* 2001; Moyes y Schulte 2007).

Aún cuando las diferencias entre hembras lactantes y no lactantes de *P. melanotis* son significativas, los niveles de IMI son superiores en las últimas, con respecto a las primeras. A diferencia de lo encontrado con la otra especie, la hipótesis en la cual las hembras lactantes requieren de mayor energía, no fue soportada (Peters 1983; Randall *et al.* 2001). Es complicado encontrar una explicación para este fenómeno, ya que la mayor parte de los estudios realizados con especies altriciales (*e. g.* aquellas cuyas crías deben madurar después del nacimiento para alcanzar las características del adulto) manifiestan un comportamiento similar al encontrado en *P. difficilis* (Künkele 2000). Hay que considerar

que el número de ejemplares capturados de *P. melanotis*, es mucho menor, en comparación con el registrado para *P. difficilis*, y a pesar de que los datos fueron abordados con la estadística apropiada para su análisis, las conclusiones son menos sólidas.

9.2. RELACIONES INTERESPECÍFICAS.

Si bien el comportamiento estacional de los IMI analizados es similar en ambas especies, existen diferencias interespecíficas significativas que son evidentes cuando se comparan de forma estacional a las poblaciones que se encuentran en el PNDL. Dichas diferencias permiten aceptar la hipótesis por la cual se espera que la variación en el tamaño se vea reflejada en el contenido de glucosa, triglicéridos, colesterol y urea.

Se sabe que el tamaño de los organismos homeotermos, determina la tasa metabólica específica y el consumo total de energía (Peters 1983). Los IMI señalan que la demanda de glucosa, es decir de energía a corto plazo, es superior en *P. melanotis*; lo que resulta coherente con lo estudiado, ya que esta especie por ser de tamaño menor con respecto a *P. difficilis*, posee una tasa metabólica específica más elevada, relacionada de manera directa con la constante pérdida de calor que presentan estos pequeños “diseños evolutivos”, y por consiguiente el consumo energético debe ser significativamente mayor, en términos proporcionales al tamaño corporal (Grodzinski y Wunder 1975; Peters 1983; Moyes y Shulte 2007). Debemos considerar que los aspectos teóricos sobre tasas metabólicas y consumo energético, se han desarrollado con experimentos donde los organismos estudiados se encuentran inmóviles, por lo que se trata de tasas metabólicas basales o en otros términos de la energía necesaria para la sobrevivencia del organismo en estado de reposo (Peters 1983). Al incluir las actividades normales de los organismos, en este caso homeotermos, las tasas metabólicas varían significativamente de una especie a

otra, siendo de gran importancia el tipo de historia de vida que despliegan (Peters 1983). En este sentido resulta interesante que la concentración de glucosa sea mayor en *P. difficilis* justo en la primavera, y este fenómeno puede deberse a que en dicha estación parece alcanzar su pico reproductor, una actividad costosa en términos energéticos y que sin duda afecta al metabolismo del animal.

Al incluir a todos los individuos que se colectaron en la tesis, y agruparlos sin considerar las estaciones en que fueron capturados, observamos que *P. difficilis*, muestra mayores cantidades de IMI en plasma, en comparación a lo observado en *P. melanotis*. Sin embargo, este comportamiento es engañoso, ya que la diferencia la hacen los organismos capturados en la primavera, por lo que la actividad reproductora de *P. difficilis* tiene un impacto fundamental en estos resultados.

Por lo tanto, podemos inferir que ambas especies utilizan de manera diferencial los recursos a lo largo del año, presionados por las fluctuaciones en los factores ambientales propios de las localidades estudiadas, las cuales determinan un patrón metabólico anual muy similar en las dos especies. Pero al comparar a las poblaciones en cada una de las estaciones, se hace evidente el papel que juega el tamaño y la reproducción de los organismos en la demanda energética; ya que *P. difficilis* supera en la primavera a *P. melanotis*, que invierte este comportamiento interespecífico a partir del verano, cuando alcanza su pico reproductor.

9.3. FACTORES AMBIENTALES.

Los roedores de campo pierden calor en ambientes fríos y lo ganan en ambientes cálidos (Grodzinski y Wunder 1975; Peters 1983). Este intercambio puede tener importantes consecuencias en el metabolismo del animal y debe reflejarse cuando hay

cambios de temperatura en el ambiente en donde se encuentren (Grodzinski y Wunder 1975; Peters 1983). Con base en esto, podemos apreciar que tanto la temperatura reportada por la estación meteorológica 766800 (TUTTIEMPO NETWORK 2009), como la registrada en el campo, muestran un comportamiento inverso a las concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol en el plasma de ambas especies de *Peromyscus*, reforzando así la idea del estrés que produce la caída en la temperatura en estos organismos, que por su tamaño tienden a perder el calor rápidamente, puesto que la conductividad térmica es directamente proporcional al tamaño corporal (Peters 1983). Esta relación indirecta entre temperatura y metabolismo, se aprecia claramente al correlacionar los factores ambientales con los IMI, ya que observamos que todas las correlaciones de Spearman que resultaron ser significativas, son negativas. Lo mismo ocurre con la cantidad de horas luz, factor que, además de estar claramente relacionado con la temperatura, resulta de igual importancia para comprender el incremento de IMI a finales del año; ya que ambas especies son de hábitos nocturnos, por lo que al haber mayor tiempo de oscuridad sus actividades se incrementan, incluyendo las asociadas a la alimentación, la captación de energía y, por lo tanto, el aumento de su metabolismo.

La variación observada en la abundancia de *P. melanotis* y *P. difficilis*, puede ser explicada a partir de los patrones observados, tanto de IMI como en la variación climática; ya que es probable que la productividad del bosque decaiga en época seca, los requerimientos nutrimentales de ambas especies no pueden ser solventados de manera sencilla. Justo en el otoño, los niveles observados de glucosa y colesterol parecen indicar que la demanda es superior tanto para *P. melanotis* como para *P. difficilis*, esto como ya se ha dicho, parece estar relacionado con la caída de la temperatura en esta época, ya que el frío externo implica la necesidad de generar mayor calor interno para sobrevivir, sobre todo

en estos organismos con poca conductividad térmica. En este sentido, podría ser que la mayoría de los individuos que componen a la población de *P. melanotis* son incapaces de alcanzar la excesiva demanda, sobre todo de glucosa, por lo que su abundancia decrece dramáticamente sobre todo en el otoño. Por su parte, las implicaciones del tamaño corporal hacen que *P. difficilis* requiera significativamente menos glucosa en esta época para mantener el equilibrio interno, por lo que la población no solo subsiste sino que mantiene una densidad más elevada y constante que la población de *P. melanotis*.

9.4. IMI EN EXCRETAS.

El comportamiento de los datos obtenidos durante el trabajo, no permiten realizar análisis de regresión, ya que se trata de pruebas paramétricas. Sin embargo, con una matriz de correlaciones de Spearman, entre el contenido en plasma y el encontrado en excreta de los distintos IMI, se observan relaciones significativas, por lo que es probable que exista una relación matemática entre estas variables. Por lo tanto, estos resultados confirman la posibilidad de realizar en un futuro no muy lejano, el estudio no invasivo del metabolismo de estas y otras poblaciones de pequeños roedores en vida silvestre, a partir del análisis exclusivo de la materia fecal (Valdespino *et al.* 2007).

Las relaciones encontradas en este trabajo, son similares a las reportadas por Valdez-Gómez (2009) en *Peromyscus melanocarpus*, los indicadores del metabolismo energético muestran correlaciones negativas y la urea se relaciona positivamente, ya que se trata de un producto final del metabolismo proteico. En un estudio no invasivo, por ejemplo, los niveles bajos de glucosa, triglicéridos y colesterol en excretas, reflejarían altas concentraciones plasmáticas y por lo mismo un elevado uso potencial de los indicadores. Por el contrario, si los datos son altos nos indican un decremento en la capacidad

metabólica de estos organismos, ya que los IMI no solo se desechan abundantemente sino también se encuentran en bajas cantidades en el plasma. Así mismo, como la urea se relaciona directamente, solo es necesario cuantificarla en heces fecales para establecer el perfil del metabolismo proteico.

X. CONCLUSIONES.

Es clara la importancia del ambiente en la regulación del metabolismo de las dos especies que fueron analizadas. Principalmente, la variación en la temperatura parece determinar las necesidades energéticas, tanto de *P. difficilis* como de *P. melanotis*. En la época de frío, los indicadores presentan un aumento significativo, por lo que podemos concluir que los individuos que componen a las poblaciones estudiadas incrementan la captación de nutrientes, ya sea en cantidad o en calidad, a partir del otoño y hasta el final de la época invernal.

A pesar de esta regulación, factores intrínsecos, como el tamaño corporal y el estado reproductor, hacen que existan diferencias metabólicas entre las especies. Estas diferencias varían a lo largo de las estaciones y parecen responder al gasto energético asociado a la reproducción (*e. g.* volumen testicular en machos de las dos especies). A partir de la primavera y continuando hasta el verano, el aumento en la temperatura, asociado con la luz visible, la humedad y la mayor productividad del bosque, permite mayor eficiencia en la reproducción de ambas especies, por lo que la estrategia que siguen, para evitar la competencia, es presentar ciclos reproductores asincrónicos; mientras *P. difficilis* se reproduce principalmente en la primavera, *P. melanotis* lo hace en el verano.

La presión que ejerce el ambiente sobre todo las bajas temperaturas, les obliga a incrementar significativamente la captación de energía metabolizable. Además la

productividad del bosque es impactada de forma negativa, ya que el otoño y especialmente el invierno, se caracterizan por lluvias escasas y poca humedad. Por lo que la abundancia de las dos especies decae drásticamente en la última parte del año, sobre todo en *P. melanotis*, la especie de menor tamaño corporal.

Este trabajo refleja la importancia de medir indicadores del metabolismo en el estudio de organismos en vida libre. Ya que nos permite apreciar cuales son las necesidades energéticas de estas especies y como las satisfacen de forma espacio-temporal, sin recurrir a un análisis detallado sobre la dieta de los organismos. En el futuro, los proyectos encaminados al control, la conservación y el aprovechamiento de roedores se pueden ver ampliamente beneficiados con estudios de este tipo, ya que si comparamos el costo (económicamente accesible para cualquier laboratorio de investigación biológica) y el tiempo que se invierte para obtener los resultados (que además resultan bastante confiables), el uso de IMI en el estudio ecofisiológico de los ratones de campo presenta claras ventajas con respecto a los estudios tradicionales de dieta, los cuales, a pesar de ser más baratos, requieren de una gran cantidad de tiempo para arrojar resultados que dependen mucho del estado en el que se encuentre el alimento en el aparato digestivo de los organismos estudiados (Silva 2005).

En este mismo sentido, toma relevancia el estudio de las excretas para este fin, ya que es fundamental encontrar métodos no invasivos para llevar a cabo el manejo de estas poblaciones (Valdez-Gómez 2009). Gracias a las relaciones encontradas entre la concentración plasmática de IMI y el contenido de los mismos en excretas, asumiendo que la relación es inversa en glucosa, triglicéridos y colesterol, y directa en la urea, como lo demuestran las correlaciones de Spearman, es posible seguir el estudio de estas poblaciones sin impactarlas demográficamente.

XI. RECOMENDACIONES FINALES.

Debemos aclarar que aún cuando los datos son suficientes para llegar a conclusiones sólidas en algunos aspectos, otros resultados no pueden ser considerados de igual importancia, por haber sido obtenidos con un número de muestra menor. Por ejemplo, las diferencias encontradas entre las dos poblaciones de *P. melanotis*, deben ser reforzadas con una colecta que incluya un perfil anual completo en el PNCA.

De igual forma, las posibles relaciones entre IMI en plasma y en excretas, que permitirían en un futuro cercano estudios no invasivos en especies silvestres en vida libre, podrían reforzarse si se amplía la muestra, hasta alcanzar un comportamiento normal de los datos. Esto incluso permitiría el uso de herramientas estadísticas, que revelen modelos matemáticos entre ambas variables.

El siguiente paso en la investigación, es la implementación del método experimental que nos permita corroborar el impacto de la temperatura, la luz y la reproducción, en la dinámica metabólica y las estrategias alimenticias de estas dos especies. Claramente, es necesario diseñar un estudio en donde se mantengan poblaciones en condiciones controladas y que permita la manipulación de las distintas variables ambientales, específicamente la temperatura, para corroborar su impacto en la concentración de indicadores de metabolismo intermediario. También sería interesante cuantificar otro tipo de indicadores, por ejemplo, ácido úrico o incluso cuantificar las proteínas totales que presenta el organismo, para reforzar lo encontrado hasta el momento. De igual forma, es importante investigar los hábitos alimentarios y la composición de la dieta de ambas especies, así como el comportamiento de estas variables a lo largo del año con el fin de

encontrar las posibles relaciones entre estas variables y el contenido de los diferentes IMI estudiados en este trabajo.

XII. LITERATURA CITADA.

- Bavera, G. A.** 2000. Suplementación mineral del bovino a pastoreo y referencias en engorde a corral. *Perfiles metabólicos, Capítulo VIII*. <http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/02_perfiles_metabolicos.pdf> [Consulta: enero 12 del 2009].
- Bradley, R. D., N. D. Durish, D. S. Rogers, J. R. Miller, M. D. Engstrom y C. W. Kilprattick.** 2007. Toward a Molecular Phylogeny for *Peromyscus*: Evidence from Mitochondrial Cytochrome-*b* Sequences. *J. Mamm.*, 88(5):1146-1159.
- Bronson, F. H.** 1989. *Mammalian reproductive biology*. Univ. Chicago Press, Chicago USA. 325pp.
- Brown, J. H., G. C. Stevens y D. W. Kaufman.** 1996. The geographic range: size, shape boundaries and internal structure. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27:597–623.
- Campos, R.** 2004. Perfil metabólico de vacas nativas colombianas. *Orinoquia*. 8(2):32-41.
- Caldwell, L. D. y C. E. Connell.** 1968. A precis on Energetics of the Old-Field Mouse. *Ecology*, 49(3):542-548.
- Cardellá-Hernández.** 2007. *Bioquímica Médica Tomo III: El metabolismo intermediario y su regulación*. Ed. Ciencias Médicas, Madrid España. 321pp.
- Carleton, M. D.** 1989. Systematics and evolution. Pp. 7-141, in *Advances in the study of Peromyscus (Rodentia)* (Kirkland, G. L. y J. N. Layne, eds.). Texas Tech Univ. Press. Texas USA. 366pp.
- Castro-Campillo A., M. Martínez-Coronel, U. Aguilera y J. Ramírez-Pulido.** 2005. *Peromyscus melanotis* (J. A. Allen y Chapman, 1897). Pp. 754-755, in *Los mamíferos*

silvestres de México (Ceballos G. y O. Giselle, eds.). CONABIO y Fondo de Cultura Económica. México.

Castro-Campillo A., A. Salame-Méndez, J. Vergara-Huerta, A. Castillo-Morales y J. Ramírez-Pulido. 2008. Fluctuaciones de Micromamíferos Terrestres en Bosques Templados Aledaños a la Ciudad de México, Distrito Federal. Pp. 391-407, in *Avances en la Mastozoología en México II* (Lorenzo, C., E. Espinoza y J. Ortega, eds.). Asociación Mexicana de Mastozoología, A. C. San Cristóbal de las Casas Chiapas.

Cox F. E. G. 1979. Ecological importance of small mammals as reservoirs of disease, in *Ecology of small mammals* (Stoddart, D. M., ed.) London. 386pp.

Derting T. L. y C. A. Hornung. 2003. Energy Demand, Diet Quality, and Central Processing Organs in Wild-Footed Mice (*Peromyscus leucopus*). *J. Mamm.*, 84(4):1381-1398.

Fahy, E., S. Subramaniam, H. Brown, C. Glass, A. Merrill, R. Murphy, C. Raetz, D. Russell, Y. Seyama, W. Shaw, T. Shimizu, F. Spener, G. van Meer, M. VanNieuwenhzem S, White, J. Witztum y E. Dennis. 2005. A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid. Res.*, 46(5):839-861.

Feder, M. E. 1987. Effect of Thermal Acclimation on Locomotor Energetics and Locomotor Performance in a Tropical Salamander, *Bolitoglossa subpalmata*. *Physiological Zoology*, 60(1):18-26.

Fehrenbacher, L. H. y E. D. Fleharty. 1976. Body composition, energy content, and lipid cycles of two species of Pocket Gophers (*Geomys bursarius* and *Pappogeomys castanops*) in Kansas. *The Southwestern Naturalist*, 21(2):185-198.

Fleharty, E. D., M. E. Krause y D. P. Stinnet. 1973. Body composition, energy content, and lipid cycles of four species of rodents. *J. Mamm.*, 54(2):426-438.

Forget, P.M. y T. Milleron. 1991. Evidence for secondary seed dispersal by rodents in Panama. *Oecologia*, 87(4):596-599.

García, E. 1981. *Modificaciones del sistema de clasificación climática de Köeppen*. Talleres Larios, S, A. México. 252pp.

Garrido, A. P., J. M. Teijón, D. Blanco, C. Villaverde, C. Mendoza, J. Ramírez. 2005. *Fundamentos de bioquímica metabólica*. Editorial Tébar de Casa Editorial Mares, S. L. Madrid España. 384pp.

Gessaman, J. A. 1972. Bioenergetics of the snowy owl (*Nyctea scandiaca*). *Arctic and Alpine Research*, 4, 223-238.

Grenot, C. J. y L. A. Buscarlet. 1988. Validation and use of isotope turnover to measure metabolism in free-ranging vertebrates. *Journal of Arid Environments*, 14(2):211-232.

Grodzinski, W. y B. A. Wunder. 1975. Ecological energetics of small mammals, in *Small mammals: their productivity and population dynamics* (Golley, F. B., K. Petruszewicz y L. Ryszkowski, eds.) Cambridge University Press. London. 451pp.

Hall, E. E. 1981. *The mammals of north america*. Vol. 1. New York: John Wiley y Sons. 2^a Edición. 767pp.

Harper, H. A. 1971. *Manual de química fisiológica*. El manual moderno. 3ra. Ed. México. 621pp.

Hayward, J. S. 1965. Microclimate temperature and its adaptative significance in six geographic races of *Peromyscus*. *Can. J. Zool.* 43(2):341-350.

Hill, R. W. 1983. Thermal physiology and energetics of *Peromyscus*; ontogeny, body temperature, metabolism, insulation, and microclimatology. *J. Mamm.*, 64(1):19-37.

Hintze, J. 2007. *NCSS 2007 user's guide*. Kaysville, UT, Number Cruncher Statistical Systems.

Hoyle, T. 1997. The digestive system: linking theory and practice. *Br. J. Nurs.* 6(22):1285-1291.

Judd, F. K., J. Herrera y M. Wagner. 1978. The Relationship between Lipid and Reproductive Cycles of a Subtropical Population of *Peromyscus leucopus*. *J. Mamm.*, 59(4):669-676.

King, J. A. 1968. Biology of *Peromyscus* (Rodentia). *Special Publication of the American Society of Mammalogists, No. 2.*, 594pp.

Kilpatrick. 2007. Toward a molecular phylogeny for *Peromyscus*: evidence from mitochondrial cytochrome-b sequences. *J. Mamm.*, 88:1146–1159.

Kirkland, Jr., G. L. y J. N. Layne. 1989. *Advances in the Study of Peromyscus (Rodentia)*. Texas Tech Univ. Press. Texas U.S.A. 366pp.

Künkele, J. 2009. Energetics of gestation relative to lactation in a precocial rodent, the guinea pig (*Cavia porcellus*). *Journal of Zoology.* 250(4):533-539.

Lehninger, A. L. 2009. *Principios de Bioquímica*. Omega Ediciones. Barcelona España. 1296pp.

Lynch G. R. 1973. Seasonal changes in thermogenesis, organ weights, and body composition in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *Oecologia*, 13(4):363-376.

Lynch, M. J., S. S. Raphael, L. D. Mellor, P. D. Spare, M. J. H. Inwood. 1977. *Métodos de laboratorio*. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. 2ª Edición. Vol 1. 768pp.

Mangan, S. A. y G. H. Adler. 2002. Seasonal dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi by spiny rats in a neotropical forest. *Oecologia*, 31(4):587-597.

Matheus, C. K., V. K. Holde. y K. G. Ahern. 2002. *Bioquímica*. 3ra.ed. Addison Wesley. Madrid España. 1335pp.

Mattson, Jr., W. J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 11: 119-161.

Merrit, J. F., M. Lima y F. Bozinovic. 2001. Seasonal regulation in fluctuating small mammal populations: feedback structure and climate. *OIKOS* 94:505-514.

Monroe, M. C., S. P. Morzunov, A. M. Johnson, M. D. Bowen, H. Artsob, T. Yates, C. J. Peters, P. E. Rollin, T. G. Ksiazek y S. T. Nichol. 1999. Genetic Diversity and Distribution of *Peromyscus*-Borne Hantaviruses in North America. *Emerging Infectious Diseases*, 5(1):75-86.

Motulsky, H.J. 1999. *Analyzing data with Graphpad Prism*. GraphPad Software, Inc., San Diego CA.

Moyes, Ch. D. y P. Schulte. 2007. *Principios de fisiología animal*. Editorial Pearson, Madrid España. 804pp.

Mullen, R. K. 1973. The D₂¹⁸O method of measuring the energy metabolism of free-living animals. Pp. 1-155, in *Ecological energetics of homeotherms* (J. Gessaman, ed.). Utah State University Mongraph Series, 20.

Nelson, D. L. y M. M. Cox. 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. New Cork: W. H. Freeman and Company. 841pp.

North, M., J. Trappe y J. Franklin. 1997. Standing crop and animal consumption of fungal sporocarps in Pacific Northwest forest. *Ecology*, 78(5):1543-1554.

Peters, R. H. 1983. *The ecological implications of body size*. Cambridge Universtity Press. USA. 329pp.

Raman, R., S. Raguram, G. Venkataraman, J. Paulson y R. Sasisekharan. 2005. Glycomics: an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans. *Nat. Methods.*, 2(11):817-824.

Ramírez-Púlido, J., L. Lira, S. Gaona, C. Müdespacher y A. Castro. 1989. *Manejo y mantenimiento de colecciones mastozoológicas*. Laboratorio de Mastozoología, UAM-I, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Biología, México D. F. 127pp.

Ramírez-Púlido, J., A. Castro-Campillo y A. Salame-Méndez. 2001. Los *Peromyscus* (Rodentia: Muridae) en la Colección de Mamíferos de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa (UAMI). *Acta Zool. Mex. (n. s.)* 83:83-114.

Randall, D., Burggren.W, French. K. 2001. *Eckert Animal Physiology: mechanisms and adaptations*. 5a ed. W.H Freeman and Company. New York USA. 736pp.

Rzedowski, J. 1978. *La vegetación de México*. LIMUSA, México, D. F. 432 pp.

Sadleir, R. M. F. 1969. *The ecology of reproduction in wild and domestic mammals*. Methuen. British Columbia Canadá. 317pp.

Salame-Méndez, A., R. M. Viguera-Villaseñor, J. R. Herrera-Muñoz, E. Mendieta-Márquez, I. H. Salgado-Ugarte, A. Castro-Campillo y J. Ramírez-Pulido. 2003.

Inmunolocalización y contenido de esteroides sexuales en ovarios de hembras de *Peromyscus melanotis* Allen y Chapman, 1897 (Rodentia: Muridae) durante la primera mitad de la preñez. *Acta Zool. Mex. (n. s.)* 88:43-57.

Salame-Méndez, A., A. Castro-Campillo, E. Mendieta-Márquez, I. H. Salgado Ugarte, J. Herrera-Muñoz y J. Ramírez-Pulido. 2004. Evaluación Estacional de la Producción de Esteroides Sexuales en Testículos del Ratón de Orejas Oscuras (*Peromyscus melanotis*, Allen y Chapman, 1897) de Diferentes Clases de Edad. *Acta Zool. Mex. (n. s.)*, 20(2):1-12.

Salame-Méndez, A., E. Mendieta-Márquez, J. Herrera-Muñoz, A. Castro-Campillo y J. Ramírez-Pulido. 2005. Evaluación de la producción de hormonas esteroides en testículos y ovarios del ratón de las rocas (*Promyscus difficilis felipensis*). *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. II(1)*:200-205.

Sanchez, A. J., K. D. Abbott y S. T. Nichol. 2001. Genetic Identification and Characterization of Limestone Canyon Virus, a Unique *Peromyscus*-Borne Hantavirus. *Virology*, 286:345-353.

Sawicka-Kapusta, K. 1968. Annual fat cycle of field mice *Apodemus flavicolis* (Melchior, 1834). *Acta Theriologica* 13(16-18):329-339.

Schreiner J., J. Slanac, L. Alcides L. J. M .Navamuel. 2004. Hematología y bioquímica sanguínea del ñandú (*Rhea americana*). Datos comparativos de animales jóvenes. *Cátedra de Fisiología - Facultad de Cs. Veterinarias. UNNE. Argentina. Vol. único: 1-3.*

Sealander, Jr., J. A. 1951. Survival of *Peromyscus* in Relation to Enviromental Temperature and Acclimation at High and Low Temperatures. *American Midland Naturalist*, 46(2):257-311.

Silva S. 2005. Posiciones tróficas de pequeños mamíferos en Chile: una revisión. *Rev. Chil. De Hist. Nat.* 78:589-599.

Smith, E., y H. Morowitz. 2004. Universality in intermediary metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101(36):13168-13173.

Smith, R. L. y T. Smith. 2001. *Ecología*. Pearson Educación, S.A. 4ª Edición. Madrid España. 642pp.

Sorensen, J. S., J. D. McLister y M. D. Dearing. 2005. Plant secondary metabolites compromise the energy budgets of specialist and generalist mammalian herbivores. *Ecology.* 86(1):125-139.

TUTTIEMPO NETWORK S.L. 2009. Datos históricos del clima en la Estación Meteorológica 766800. <http://www.tuttiempo.net/clima/MEXICO_CITY/766800.htm> [Consulta: mayo 16 del 2009].

Valdespino, C., M. Martínez-Mota, L. M. García- Feria y L. E. Martínez- Romero. 2007. Evaluación de eventos reproductores y estrés fisiológico de vertebrados silvestres a partir de sus excretas: Evolución de una metodología no invasiva. *Acta Zool. Mex. (n. s.),* 23(3):151-180 .

Valdez-Gómez, G. M. 2009. *Contenido de hormonas esteroides y de algunos metabolitos como indicadores de funciones reproductivas y metabólicas en *Peromyscus melanocarpus* en la Sierra Madre de Oaxaca, México.* Tesis de Maestría. CIIDIR-Oaxaca. Oaxaca México. 78pp.

Van-Tienhoven, P. D. 1983. *Reproductive physiology of vertebrates.* Cornell University Press. USA. 382pp.

Vargas, M. F. 1984. *Parques nacionales de México y reservas equivalentes. Pasado, presente y futuro. Colección: Los Grandes Problemas Nacionales. Serie: Los Bosques de México.* Instituto de Investigaciones Económicas. UNAM. México D. F. 266pp.

Vázquez, L. B., G. N. Cameron y R. A. Medellín. 2004. Characteristics of Diet of *Peromyscus aztecus* and *Reithrodontomys fulvescens* in Montane Western Mexico. *J. Mamm.*, 85(2):196-205.

Wilson, E., F. Russell, J. D. Nichols, R. Rudran y M. S. Foster. 1996. *Measuring and Monitoring Biological Diversity; Standard Methods for Mammals.* Smithsonian Institution Press. Whashington USA. 409pp.

Zar, J. H. 2007. *Biostatistical analysis.* Prentice-Hall, Inc. U.S.A. 5^a Edición. 662pp.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad
Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Jesús Vergara Huerta

El día 14 de diciembre del 2009

Comité Tutorial

Tutor: Dr. José Ramírez Pulido



Asesor: Dr. P. Arturo Salame Méndez

Asesor: Dr. Fausto R. Méndez de la Cruz

Sinodal: Dra. A. Alondra Castro Campillo

Sinodal: Dr. Isaías H. Salgado Ugarte