

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**



Casa abierta al tiempo

**“Estudio sobre Algunos Aspectos de la Biología de la
Reproducción de *Peromyscus winkelmanni*”**

Tesis

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA

Mario García Lorenzana.

DIRECTOR:

Dr. Ricardo López Wilchis.

ASESORAS:

Dra. Concepción Sánchez Gómez.

Dra. Ma. del Carmen Uribe Aranzabal.

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE DE 2007

“ El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de excelencia del CONACYT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93”.

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las
Unidades Iztapalapa y Xochimilco
Aprobó la tesis que presentó

Mario García Lorenzana

El día 17 de octubre de 2007

Sinodales:

Dr. Miguel Betancourt Rule (Presidente)

Dra. Concepción Sánchez Gómez (Secretaria)

Dra Ma. del Carmen Uribe Aranzábal (Vocal)

Dr. Ricardo López Wilchis (Vocal)

Dr. Andrés Castell Rodríguez (Vocal)

DEDICATORIA

A Charín y a May por el nuevo significado que le han dado a mi vida.

A May y Charín por su actitud de comprensión, paciencia, apoyo y cariño.

A Charo por acompañarme durante esta experiencia.

Por respaldarme con su torbellino interno, por brindarme una filigrana de encuentros y desencuentros, por sus detalles. Por todo.

A mis padres por su cariño, apoyo, y enseñanzas que me acompañan siempre.

A mis hermanos:

Fela por su doctrinal apoyo.

Lulú por recordarme siempre el buen camino.

Pepe por ser un recuerdo presente siempre.

Tere por su férrea voluntad para alcanzar las metas.

Pili por su sonrisa y visión de la vida.

A Carmen y Jorge por su paciencia y ayuda

A mis sobrinos, primos y cuñados que siempre muestran interés por mi trabajo.

A los compañeros del área de Neurociencias por darme la oportunidad de concluir esta etapa de mi vida profesional. Javier, Anabel, Armando, Adriana y Rosario.

A mis estudiantes que me han brindado su ayuda siempre Yuri y Vero.

A la comunidad del área de Neurociencias por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ricardo López-Wilchis por darme la oportunidad de conocer la mastozoología. Por sus enseñanzas y orientaciones que me ayudaron a culminar este trabajo

A las Dras. Mari Carmen y Concepción por sus enseñanzas y apoyo que van más allá de la Histología y la Morfología. Por empujarme en mi desarrollo personal.

A los sinodales: Dr. Miguel Betancourt Rule y Dr. Andrés Castell Rodríguez por sus comentarios y sugerencias

A la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa por su apoyo permanente.

A los compañeros en las salidas al campo, por su ayuda: Miguel y Judith.

Al Sr. Mario Jáuregui Castro por su asistencia técnica

A los Maestros y compañeros del laboratorio de Microscopía electrónica de la Facultad de Ciencias.

A todos aquellos que de una o de otra forma contribuyeron en la culminación de esta tesis.

Resumen

La mastofauna mexicana se caracteriza por su alto grado de endemismo: casi un tercio de las especies de mamíferos terrestres de México (144) son endémicas. De estas especies, la mayoría pertenece al orden Rodentia. De la gran mayoría de las especies se desconocen aún los aspectos básicos de sus patrones reproductores. Este desconocimiento hace que los planes de conservación de muchas de las especies estén basados más en el sentido común que en información científica confiable. Por esto, los estudios sobre la biología de la reproducción de roedores endémicos de México son valiosos. Diversos trabajos en el género *Peromyscus* demuestran su importancia en el área biomédica. En este género existen especies de las que no se tienen datos sobre sus patrones reproductores, este es el caso de *Peromyscus winkelmanni*, roedor endémico de Michoacán. El objetivo de esta tesis es describir la anatomía macroscópica y microscópica del aparato reproductor de *P. winkelmanni*, y contribuir al conocimiento de la biología de la reproducción de la especie. Los ejemplares empleados provienen de seis colectas (Dos Aguas, Michoacán), de 1994 a 1998. Dos machos y 2 hembras fueron sacrificados por colecta. El aparato reproductor se fijó por inmersión y riego intravascular, se procesó para microscopía de luz y electrónica, respectivamente. Las tinciones empleadas para microscopía de luz fueron: H-E, Masson, PAS, Papanicolau, azul de alciano y de toluidina. Para microscopía electrónica de barrido, recubrimiento con oro y para microscopía electrónica de transmisión citrato de plomo y acetato de uranilo. Así mismo, se analizó la citología vaginal de hembras en condiciones de bioterio. Parte del material procesado se analizó estereológicamente con el programa KS-300, para su valoración estadística. La anatomía macroscópica de los aparatos reproductores masculino y femenino, en general, muestran gran similitud a lo reportado en otras especies del mismo género. La organización histológica de los aparatos reproductores presentan características similares a géneros de la familia Muridae. Sin embargo, se aprecian diferencias en el ciclo del epitelio seminífero, clara regionalización del epidídimo y variaciones en algunas glándulas accesorias a los conductos del aparato reproductor masculino. El espermatozoide presenta un número diferente

de fibras densas externas, con respecto a otras especies de mamíferos. Los ovarios, oviductos, útero, y vagina, muestran variaciones estacionales, así como zonas de presumible reabsorción embrionaria uterina. Las diferencias anatómicas, probablemente representen zonas de control de la maduración y capacitación de los espermatozoides, tal como se ha planteado en otros mamíferos. Las diferentes asociaciones celulares del ciclo del epitelio seminífero se pueden atribuir a estados de regresión y reactivación testicular. La regionalización tisular y celular encontrada en el epidídimo sugiere una estrategia reproductora adicional que regula la maduración de los espermatozoides de manera estacional. La variabilidad de las glándulas accesorias a los conductos del aparato reproductor femenino, podría ser reflejo de diferencias individuales. En tanto que la variabilidad en ovarios, oviductos, utero y vagina constituyen los cambios propios de una reproducción estacional. El hallazgo uterino de reabsorción embrionaria evidencia una estrategia reproductora acorde a los factores ambientales. Los rasgos morfológicos descritos en conjunto y en relación a datos de campo y de bioterio, sugieren que *P. winkelmanni* presenta un ciclo estacional, oportunístico y poliéstrico.

ABSTRACT

The Mexican fauna is characterized for its high level of endemism: almost one third of the terrestrial mammalian species are endemic. Of these, most of them belong to the Rodentia order and at the present time the basic aspects of their reproductive patterns are not known. For this, the studies of reproduction biology of endemic rodents of Mexico are valuable. Therefore the objective of this work is to describe the macroscopic and microscopic anatomy of the reproductive organs of *Peromyscus winkelmanni*. The specimens come from five collections (Dos Aguas, Michoacan), from 1994 to 1998. Two males and two females were sacrificed of each collection. The reproductive organs were processed for light and electronic microscopy, respectively. The stains used for the light microscopy was: Hematoxylin-Eosin, Masson, PAS, Papanicolau, alcian blue and toluidin blue. For the covering electronic microscopy with gold and citrate of lead-uranyl acetate. The vaginal cytology and the specimens conduct in during captivity were also analyzed. Part of the material was analyzed stereologically. The macroscopic and microscopic anatomy of the male and female reproductive organs, in general shows a great similarity to other species of the Muridae family. In spite of this, differences in the testicle, epididymis and the accessory glands are seen. The sperm presents structural asymmetry. The female reproductive organs, shows seasonal variations, as well as uterine embryonic reabsorption. The different cell associations of the seminiferous epithelium cycle can be attributed to regression states and testicular reactivation. The tisular and cellular regionalization in the epithelium suggests an additional reproductive strategy that regulates the maturation of the sperms in a seasonal way. The variability in the female reproductive organs represents their own changes of a seasonal reproduction. The morphological features described as a whole and in relation to field and biotheric data, suggest that *Peromyscus winkelmanni* presents a opportunistic and poliestic seasonal cycle.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| Dedicatoria | iv |
| Agradecimientos | v |
| Resumen | vi |
| Abstract | viii |
| Índice | ix |
| Lista de Tablas | xv |
| Lista de Figuras | xvi |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| MARCO TEÓRICO | 1 |
| 1.1 Aspectos generales de la Reproducción en Mamíferos | 1 |
| 1.1.1 Mamíferos de México | 1 |
| 1.1.2 Reproducción Estacional | 2 |
| 1.1.2.1 Rodentia | 5 |
| 1.1.2.2 Muridae | 6 |
| 1.1.2.3 <i>Peromyscus</i> | 8 |
| 1.1.3 Condiciones Ambientales y Reproducción | 9 |
| 1.1.3.1 Factores Biológicos | 9 |
| 1.1.3.1 Nutrición | 9 |
| 1.1.3.2 Factores Físicos | 11 |
| 1.1.3.2.1 Altitud | 11 |
| 1.1.3.2.2 Latitud | 12 |
| 1.1.3.2.3 Fotoperiodo | 12 |
| 1.1.3.2.4 Temperatura | 16 |
| 1.1.3.2.5 Precipitación pluvial | 17 |
| 1.1.3.3 Factores Sociales | 17 |
| 1.1.4 Regulación Neuroendocrina | 19 |
| II. ANTECEDENTES | 22 |
| 2.1 Desarrollo y Reproducción | 22 |
| 2.1.1 Desarrollo prenatal | 22 |

| | |
|--|----|
| 2.1.2 Parto | 23 |
| 2.1.3 Crecimiento y desarrollo de las crías | 24 |
| 2.1.4 Edad al independizarse de las crías | 24 |
| 2.1.5 Crecimiento y desarrollo postdestete | 25 |
| 2.1.6 Maduración | 26 |
| 2.1.7 Tamaño de la camada | 26 |
| 2.1.8 Costo y metabolismo energético | 28 |
| 2.2 Características Reproductoras del Género <i>Peromyscus</i> | 29 |
| 2.2.1 Anatomía del aparato reproductor | 29 |
| 2.2.2 Patrones de reproducción | 31 |
| 2.3 Especie Objeto de Estudio | 35 |
| 2.3.1 Clasificación de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 35 |
| 2.3.2 Diagnósis de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 35 |
| 2.3.3 Distribución geográfica de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 35 |
| 2.3.4 Hábitat | 35 |
| III. JUSTIFICACIÓN | 36 |
| IV. OBJETIVOS | 39 |
| 4.1 Objetivo general | 39 |
| 4.2 Objetivos particulares | 39 |
| V. MATERIALES Y MÉTODOS | 40 |
| 5.1 Trabajo de Campo | 40 |
| 5.2 Identificación taxonómica | 40 |
| 5.3 Estudio anatómico | 43 |
| 5.4 Microscopía de Luz | 45 |
| 5.5 Citomorfometría | 45 |
| 5.6 Microscopía Electrónica de Barrido | 46 |
| 5.7 Microscopía Electrónica de Transmisión | 46 |
| 5.8 Introducción de ejemplares al Bioterio | 49 |
| 5.8.1 Periodo de adaptación | 49 |
| 5.9 Citología Vaginal y Ciclo Estral | 50 |
| 5.10 Conducta | 50 |

| | |
|---|----|
| VI. RESULTADOS | 52 |
| 6.1 Trabajo de Campo | 52 |
| 6.2 Aparato Reproductor Masculino | 53 |
| 6.2.1 Descripción de la anatomía macroscópica | 53 |
| 6.2.1.1 Testículos | 57 |
| 6.2.1.2 Epidídimos | 58 |
| 6.2.1.3 Conducto deferente y Glándulas accesorias | 59 |
| 6.2.2 Descripción de la anatomía microscópica | 60 |
| 6.2.2.1 Testículos | 60 |
| 6.2.2.1.1 Ejemplares Adultos | 60 |
| 6.2.2.1.2 Ejemplares Juveniles | 68 |
| 6.2.2.2 Epidídimos | 70 |
| 6.2.2.2.1 Ejemplares Adultos | 70 |
| 6.2.2.2.1.1 <i>Caput</i> | 70 |
| 6.2.2.2.1.1.1 Zona I | 70 |
| 6.2.2.2.1.1.2 Zona II | 70 |
| 6.2.2.2.1.1.3 Zona III | 71 |
| 6.2.2.2.1.1.4 Zona IV | 71 |
| 6.2.2.2.1.1.5 Zona V | 71 |
| 6.2.2.2.1.2 <i>Corpus</i> | 72 |
| 6.2.2.2.1.2.1 Zona VI | 72 |
| 6.2.2.2.1.3 <i>Cauda</i> | 72 |
| 6.2.2.2.1.3.1 Zona VII | 72 |
| 6.2.2.2.1.4 Morfometría | 75 |
| 6.2.2.2.1.5 Microscopía electrónica de Barrido | 77 |
| 6.2.2.2.2 Ejemplares Juveniles | 79 |
| 6.2.2.2.2.1 Microscopía de luz | 79 |
| 6.2.2.2.2.2 Microscopía electrónica de Barrido | 79 |
| 6.2.2.3 Conducto deferente y Glándulas accesorias | 82 |

| | |
|---|-----|
| 6.2.2.3.1 Ejemplares Adultos | 82 |
| 6.2.2.4 Espermatozoides | 84 |
| 6.2.2.4.1 Microscopía de luz | 84 |
| 6.2.2.4.2 Microscopía electrónica de Barrido | 84 |
| 6.2.2.4.3 Microscopía electrónica de Transmisión | 85 |
| 6.2.2.4.3.1 Cabeza | 85 |
| 6.2.2.4.3.2 Cuello | 87 |
| 6.2.2.4.3.3 Pieza Intermedia | 87 |
| 6.2.2.4.3.4 Pieza Principal | 87 |
| 6.2.2.4.3.5 Pieza Terminal | 88 |
| 6.3 Aparato Reproductor Femenino | 90 |
| 6.3.1 Descripción de la anatomía macroscópica | 90 |
| 6.3.1.1 Ovarios | 93 |
| 6.3.1.2 Oviductos | 93 |
| 6.3.1.3 Cuernos Uterinos | 95 |
| 6.3.1.4 Utero | 95 |
| 6.3.1.5 Cérvix | 95 |
| 6.3.1.6 Vagina | 96 |
| 6.3.2 Descripción de la anatomía microscópica | 96 |
| 6.3.2.1 Ovarios | 96 |
| 6.3.2.2 Oviductos | 99 |
| 6.3.2.3 Cuernos Uterinos | 99 |
| 6.3.2.4 Cérvix | 103 |
| 6.3.2.5 Vagina | 103 |
| 6.4 Introducción al Bioterio | 103 |
| 6.4.1 Primera colecta | 103 |
| 6.4.2 Segunda colecta | 104 |
| 6.4.3 Tercera colecta | 104 |
| 6.4.4 Cuarta colecta | 105 |

| | |
|---|------------|
| 6.5 Citología Vaginal y Ciclo Estral | 105 |
| 6.5.1 Tipos celulares | 105 |
| 6.5.1.1 Superficiales | 105 |
| 6.5.1.1.1 Acidófilas | 105 |
| 6.5.1.1.2 Basófilas | 106 |
| 6.5.1.2 Intermedias | 106 |
| 6.5.1.2.1 Basófilas | 106 |
| 6.5.1.3 Basales | 106 |
| 6.5.1.3.1 Acidófilas | 106 |
| 6.5.1.3.2 Basófilas | 106 |
| 6.6 Conducta | 108 |
| VII. DISCUSIÓN | 112 |
| 7.1 Trabajo de campo | 112 |
| 7.2 Aparato reproductor masculino | 115 |
| 7.2.1 Testículos | 117 |
| 7.2.2 Epidídimos | 120 |
| 7.2.3 Conducto deferente y Glándulas accesorias | 128 |
| 7.2.4 Espermatozoides | 128 |
| 7.3 Aparato reproductor femenino | 130 |
| 7.3.1 Citología Vaginal | 131 |
| 7.3.2 Conducta | 132 |
| VIII. CONCLUSIONES | 133 |
| IX. PROSPECTIVA | 135 |
| X. REFERENCIAS | 137 |
| ANEXOS | 154 |
| A. Datos morfométricos | 154 |
| B. Microscopía de luz | 157 |
| B.1 Procesamiento | 157 |
| B.2 Corte | 157 |
| B.3 Técnicas de Tinción | 157 |

| | |
|--|------------|
| B.3.1 Hematoxilina y Eosina | 157 |
| B.3.2 Tricrómica de Masson | 160 |
| B.3.3 Método de Azul de Alciano (pH 2.5) | 163 |
| B.3.4 Método de Azul de Alciano (pH 1) | 165 |
| B.3.5 Peryodic Acid Schiff | 166 |
| B.3.6 Tinción de Papanicolau | 167 |
| C. Microscopía electrónica | 168 |
| C.1 Fijación por riego Intravascular | 168 |
| C.2 Barrido | 170 |
| C. 3 Transmisión | 171 |
| D. Conducta | 173 |
| E. Análisis estadístico | 174 |
| ARTÍCULO PUBLICADO | 192 |

Lista de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Número de ejemplares colectados y porcentaje de captura | 52 |
| Tabla 2. Fecha de colecta y datos morfofisiológicos del aparato reproductor masculino de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 54 |
| Tabla 3. Análisis comparativo de diferentes zonas del epidídimo de ejemplares adultos de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 76 |
| Tabla 4. Resumen de los hallazgos morfológicos en el aparato reproductor masculino de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 89 |
| Tabla 5. Fecha de colecta y datos morfofisiológicos del aparato reproductor femenino de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 92 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Fig. 1. Factores medioambientales que influyen en la reproducción y su regulación neuroendocrina | 20 |
| Fig. 2. Hábitat en el que se ha encontrado a <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 41 |
| Fig. 3. Diagrama de la etapas principales de la metodología | 42 |
| Fig. 4. Fases metodológicas generales del estudio anatómico | 44 |
| Fig. 4.1. Protocolo de trabajo para la microscopía de luz | 47 |
| Fig. 4.2. Protocolo de trabajo para la microscopía electrónica | 48 |
| Fig. 5. Introducción al bioterio, registro de conducta y citología vaginal | 51 |
| Fig. 6. Variación promedio mensual de temperatura, precipitación pluvial e insolación | 53 |
| Fig. 7. Fotomicrografías de testículo y <i>cauda</i> de epidídimo de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 55 |
| Fig. 8. Aparato reproductor masculino de <i>Peromyscus winkelmanni</i> adulto | 57 |
| Fig. 9. Fotomicrografías y electromicrografías del testículo de <i>Peromyscus winkelmanni</i> adulto | 62 |
| Fig. 10. Fotomicrografías de testículo de <i>Peromyscus winkelmanni</i> adulto | 63 |
| Fig. 11. Fotomicrografías de testículo de <i>Peromyscus winkelmanni</i> en regresión | 66 |
| Fig. 12. Fotomicrografías de la red testicular y conductos eferentes | 67 |
| Fig. 13. Fotomicrografía de testículo de <i>Peromyscus winkelmanni</i> juvenil | 69 |
| Fig. 14. Epidídimo de ejemplar adulto de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 73 |
| Fig. 15. Fotomicrografías de los diferentes tipos de epitelio de los conductos epididimarios | 74 |
| Fig. 16. Electromicrografías del epidídimo de ejemplar adulto de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 78 |
| Fig. 17. Fotomicrografías de epidídimo de ejemplares de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 80 |
| Fig. 18. Electromicrografías de epidídimo de | |

| | |
|---|-----|
| <i>Peromyscus winkelmanni</i> juveni | 81 |
| Fig. 19. Fotomicrografía del conducto deferente | 83 |
| Fig. 20. Electromicrografía de barrido y transmisión de espermatozoides epididimarios | 86 |
| Fig. 21. Aparato reproductor femenino de <i>Peromyscus winkelmanni</i> | 94 |
| Fig. 22. Fotomicrografías y electromicrografías de ovario | 98 |
| Fig. 23. Fotomicrografías y electromicrografías de oviducto | 100 |
| Fig. 24. Fotomicrografías y electromicrografías de útero | 101 |
| Fig. 25. Fotomicrografías de cérvix, útero y vagina | 102 |
| Fig. 26. Fotomicrografías de frotis vaginales | 107 |
| Fig. 27. Duración del ciclo estral | 109 |
| Fig. 28. Posturas y conductas típicas | 110 |
| Fig. 29. Etapas de actividad y descanso | 111 |
| Fig. 30. Longitud total | 154 |
| Fig. 31. Cola vertebral | 154 |
| Fig. 32. Pata trasera | 155 |
| Fig. 33. Oreja | 155 |
| Fig. 34. Medidas Craneales Consideradas | 156 |

I. INTRODUCCIÓN

MARCO TEÓRICO.

1.1 Aspectos generales de la Reproducción en Mamíferos.

1.1.1 Mamíferos de México.

México es el único país del mundo que contiene la totalidad de un límite continental entre dos regiones biogeográficas: la neártica y la neotropical (Arita, 1994; Brown y Gibson, 1983). La convergencia de estas regiones y la accidentada topografía del país, generan una diversidad de paisajes, ecosistemas y culturas que se encuentra entre las más grandes del mundo (Mittermeier, 1988). México se encuentra entre los países de megadiversidad (Mittermeier *et al.*, 1999).

Los mamíferos terrestres constituyen un componente importante de la diversidad biológica del país. La mastofauna terrestre mexicana está constituida por alrededor de 440 especies que han sido clasificadas en cerca de 149 géneros, 33 familias y 10 órdenes (Ramírez-Pulido y Britton, 1981; Cevallos y Navarro, 1991). Estas cifras representan el 50% de los órdenes del mundo, el 25% de las familias, el 14% de los géneros y el 10% de las especies (Novak, 1999). Entre los órdenes comprendidos se encuentra el Rodentia representado por 212 especies (Arita, 1994).

La riqueza faunística de México se encuentra acompañada por una gran diversidad de formas ecológicas. La variedad de mamíferos se refleja en la diversidad de los ecosistemas de México. La composición de la fauna de México resulta de la combinación de los elementos neárticos, provenientes de América del Norte, neotropicales, provenientes de América del Sur y de las formas endémicas que posiblemente se originaron en lo que ahora es México. La mastofauna mexicana se caracteriza, además de su riqueza, por su alto grado de endemismo: casi un tercio de las especies de mamíferos terrestres de México (144) son endémicas. De estas especies, la mayoría pertenece al orden Rodentia (Arita y Ceballos, 1997).

Desafortunadamente, el conocimiento ecológico de los mamíferos mexicanos

es muy pobre en comparación con el taxonómico. De la gran mayoría de las especies se desconocen aún los aspectos básicos de su historia natural como son la dieta, las interacciones con otros organismos y sus patrones reproductores (Arita, 1994).

Este desconocimiento hace que los planes de conservación de muchas de las especies estén basados más en el sentido común que en información científica confiable (Arita y Ceballos, 1997). Por lo tanto, los estudios sobre la biología de la reproducción de roedores endémicos de México son de gran valor.

1.1.2 Reproducción Estacional

La reproducción en los mamíferos es un proceso complejo que debe ocurrir en armonía con la dieta así como con las condiciones físicas y sociales. Para lo cual la selección natural ha provisto a los mamíferos con una amplia variedad de sistemas de señales, que acoplan las variaciones del ambiente con algún tipo de respuesta neuroendocrina adecuada (Bronson, 1985).

Los factores medio ambientales que influyen en la reproducción son: la disponibilidad de alimento, aspectos sociales y aspectos físicos (ciclo luz-obscuridad, temperatura, humedad y lluvia) (Bronson, 1985). Actualmente se han logrado grandes avances en la descripción y comprensión de las vías y procesos neuroendocrinos desencadenados por el fotoperiodo; seguramente en los próximos años se avanzará, más aún, en el establecimiento de la forma en que los factores ambientales interactúan en su acción sobre la reproducción (Malpoux, 2006).

Varias estrategias de investigación se han seguido para ampliar el conocimiento acerca de la forma en que los factores ambientales modulan la reproducción en los mamíferos (Sadleir, 1969).

Una primera estrategia es el estudio de los organismos en su hábitat natural, donde los índices generales de reproducción se correlacionan con las variaciones que ocurren naturalmente con los factores ambientales. Otra estrategia es el estudio de los animales que se mantienen en condiciones de cautiverio, en este caso, se pueden realizar estudios finos de su fisiología. Una tercera estrategia es mantener a

los organismos en condiciones seminaturales controladas en zonas de reserva o granjas.

Es claro que la comprensión de los patrones reproductores de los organismos, ayuda a entender mejor varios aspectos de su biología, entre ellos el desarrollo ontogenético y sus procesos básicos tales como el crecimiento, las interacciones, el movimiento, la diferenciación celular y el metabolismo (Spratt, 1971). Para entender mejor los patrones reproductores de un grupo de organismos es importante conocer aspectos tales como la anatomía de sus sistemas genitales, los mecanismos que controlan la producción de gametos, el tipo de fertilización, implantación, desarrollo embrionario, placentación, gestación, tamaño de camada y estrategias de reproducción.

Asimismo, el conocimiento sobre la ontogenia de un organismo resulta fundamental para comprender su filogenia. Por lo cual un estudio sobre la forma en que dichos patrones son regulados resulta de gran interés biológico. En la siguiente sección se referirán de manera general las características propias de los patrones reproductores de los mamíferos.

Los mamíferos ocupan, en la actualidad, una gran diversidad de hábitats y presentan diferentes estilos de vida. Inherente a esta situación, se ha dado un entrelazamiento de la selección de su dieta, la tasa metabólica, el tamaño corporal, la tasa de desarrollo, la longevidad, la organización social y otras características específicas de cada grupo de mamíferos. La selección natural ha modificado las estrategias reproductoras de las diferentes poblaciones de mamíferos para hacerlas compatibles con las características antes señaladas, que ha dado como resultado una gran variación en el número de la progenie, tiempo de vida tasa de descendencia, tiempo en el que se alcanza la pubertad, longitud de la gestación y de la lactancia, y en las características del ciclo ovulatorio. De igual manera se presentan adaptaciones características como la diapausa embrionaria, el almacenamiento espermático con el retraso de la fecundación, la pseudopreñez inducida y espontánea, la presencia o ausencia de estro postparto, y la ovulación refleja y espontánea (Bronson y Heideman, 1994).

Los componentes estacionales de las estrategias reproductoras de los mamíferos, probablemente, han sido conformadas por la interacción de diferentes variables, tanto extrínsecas como intrínsecas. Entre las principales variables extrínsecas están la severidad y duración de los cambios climáticos y alimentarios a los que se enfrentan los mamíferos en el habitat que ocupan. Variables extrínsecas, serían, también, la competencia por los recursos con poblaciones estrechamente relacionadas, así como la presión de los predadores. Las variables intrínsecas de mayor importancia son la longevidad, el tamaño corporal, la duración del ciclo reproductor femenino que va desde la maduración de las gónadas hasta el destete de la descendencia, estrategias alimentarias, así como mecanismos estacionales de supervivencia como la hibernación (Bronson y Heideman, 1994).

Los mamíferos presentan estrategias reproductoras estacionales facultativas y obligatorias. En el primer caso las poblaciones tienen la posibilidad de prolongar su reproducción durante todas las estaciones del año, en tanto que en las obligatorias este periodo se restringe a una estación determinada. (Negus y Berger, 1977). Por otro lado, también se considera la estrategia denominada “oportunismo”, la cual se caracteriza porque el macho presenta actividad sexual durante todo el año y la hembra se reproduce estacionalmente o de manera continua, dependiendo de las condiciones energéticas y nutricionales e independiente del fotoperiodo (Bronson y Heideman, 1994).

La disponibilidad del alimento, la temperatura ambiental, la lluvia y la humedad, y en menor grado, las presiones de competencia y predación tienen una influencia muy importante desde el punto de vista evolutivo sobre las estrategias reproductoras. En algunos mamíferos la disponibilidad de alimento actúa como un factor de efecto inmediato que regula la reproducción anual. En tanto que la interacción entre la disponibilidad de alimento y la temperatura ambiental son de gran importancia como una influencia inmediata cuando el tamaño corporal decrece y la latitud de la residencia se incrementa. La dependencia de la estacionalidad al fotoperiodo es más ventajosa cuando el tamaño del cuerpo y la latitud se incrementan. Desde luego, en todos los casos se observan excepciones (Bronson y

Heideman, 1994).

Los factores sociales (elementos ferhormonales y estresores sociales no específicos) probablemente son de gran importancia en sincronizar de manera fina la activación y desactivación de la reproducción y en determinar la eficiencia de la reproducción dentro de una estación de crianza (Bronson y Heideman, 1994).

En forma integrada, los mecanismos neuroendocrinos de los diferentes factores que influyen en la reproducción, los cuales se abordarán más adelante, parecen tener como elemento disparador a la hormona liberadora de gonadotrofinas (Gonadotropin-Releasing-Hormone: GnRH) (Bronson y Heideman, 1994).

A continuación se presenta una descripción general sobre los patrones de reproducción del orden Rodentia.

1.1.2.1 Rodentia

El orden Rodentia cuenta con 32 familias, 443 géneros y alrededor de 2021 especies (Wilson y Reeder, 1993), comprende cerca del 40% de las especies de mamíferos y es considerado el orden más grande de la clase Mammalia (Vaughan, 1986). El elevado número de especies y la gran variedad de hábitats que ocupan, dan como resultado patrones reproductores muy diversos. Además, los hábitos nocturnos y subterráneos de muchas especies, dificultan el estudio de sus patrones reproductores (Asdell, 1964). Desafortunadamente, excepto para las especies comúnmente manejadas en condiciones de laboratorio, el conocimiento de su biología reproductiva no concuerda con su importancia y diversidad (Hayssen *et al.*, 1993). Ante esta situación, se hará una relación de los patrones reproductores de los órdenes con mayor información disponible y con ello brindar una panorámica general del grupo.

La familia Sciuridae (ardillas) presenta un gran número de especies poliéstricas durante la primavera y el verano, con anestro durante la hibernación. Generalmente la ovulación es espontánea, sin embargo se dan casos de ovulación refleja. Aparentemente la ovulación se produce una vez que la lactancia concluye lo que reduce el número de camadas por año (Asdell, 1964).

Los patrones reproductores de la familia Geomydae (tuzas) son muy diversos, aún en un mismo género. Algunos son poliéstricos todo el año, otros lo son por un periodo limitado, en tanto que otros tienen una sola camada al año. Probablemente, el tipo de hábitat (el desierto y sus alrededores) ocasiona esta diversidad (Hayssen *et al.*, 1993).

La familia Heteromyidae (ratones espinosos) presenta, en su mayoría, especies poliéstricas durante todo el año, no obstante, se sabe que durante la última parte del verano muestran menor actividad (Asdell, 1964).

La familia Caviidae (chinchillas y cuyo) y otras familias del suborden Hystricognathi, muestran un ciclo reproductor más largo que la familia Muridae. Probablemente la mayoría de las especies de esta familia presentan cuerpo luteo funcional durante todo el ciclo. En la mayoría de las especies en las que se conoce el tiempo de gestación, éste es, excepcionalmente largo, para el tamaño corporal (Asdell, 1964).

Los datos anteriores confirman la gran diversidad de patrones reproductores presentes en las especies del orden Rodentia. Así mismo, a pesar de las investigaciones realizadas sobre la biología de la reproducción del grupo (Hayssen *et al.*, 1993), se aprecian todavía vacíos de conocimiento, en este contexto, el género *Peromyscus* no es la excepción.

El género *Peromyscus* roedor que pertenece a la familia Muridae, subfamilia Sigmodontinae. Es uno de los grupos de mamíferos más representativos y estudiados de Norteamérica (King, 1968; Kirkland y Layne, 1989), y ocupa una gran diversidad de ambientes, desde zonas rocosas hasta bosques tropicales. Por lo cual, se referirán las características reproductoras de la familia Muridae en una sección aparte.

1.1.2.2 Muridae

Los géneros de esta familia son principalmente poliéstricos durante todo el año, particularmente en condiciones de laboratorio. Sin embargo, en el campo, las camadas tienden a ocurrir solamente en julio y agosto y otra vez en el invierno. Los

factores ambientales que pueden tener mayor influencia en la reproducción de este grupo son la calidad y cantidad de alimento, disponibilidad del agua y fotoperiodo (Bronson, 1985). En las especies de este grupo, con una intensa tasa metabólica, al parecer, la disponibilidad de agua resulta ser uno de los factores de mayor influencia en la reproducción (Morton *et al.*, 1995).

El estro postparto es la regla general en esta familia, sin embargo, no ocurre en todas sus especies como es el caso en *Peromyscus*. Cuando se inicia la gestación y las hembras están lactando, la implantación se difiere y es común la prolongación de la gestación, principalmente entre las especies pequeñas. Si las hembras no son preñadas el anestro de lactancia es la regla (Asdell, 1964).

La ovulación es espontánea. La pseudo preñez ha sido registrada en este grupo pero pocas especies han sido investigadas para poder establecer la generalidad. Aparentemente el confinamiento reduce el tamaño de la camada, pues se ha reportado que ésta es mayor en condiciones silvestres, que en cautiverio (Asdell, 1964).

Resulta importante hacer referencia al estudio realizado por Innes y Millar (1994), porque muestra la orientación de las investigaciones tendientes a profundizar el estudio de los patrones reproductores de la familia Muridae. Si bien los géneros analizados pertenecen a una subfamilia diferente a la que pertenece el género *Peromyscus*, objeto del presente trabajo, hacen referencia a datos conocidos sobre el género *Peromyscus*.

Estos investigadores (Innes y Millar, 1994) revisan y analizan en 5 especies de *Clethrionomys* y 33 especies de *Microtus* datos sobre peso de adultos, tamaño de la camada, tiempo de gestación, peso neonatal, edad, peso y talla al destete, edad máxima de apareamiento y longitud del periodo reproductor. Encuentran que la variabilidad entre el tamaño de la camada y el peso corporal del macho no es significativamente diferente al comparar entre poblaciones cíclicas y no cíclicas. También, calcularon los coeficientes de variación para las tres especies con mayor número de datos (*C. gapperi*, *C. glareolus* y *M. pennsylvanicus*). Sus resultados muestran variación intraespecífica entre rasgos así como entre las especies. El

tiempo de gestación es el rasgo de menor variación, en tanto que el peso de los adultos y de los neonatos, así como tiempo de gestación y tamaño de la camada tuvieron valores similares a los reportados para *Peromyscus maniculatus*.

Cinco y ocho rasgos difieren entre las especies *Clethrionomys* y *Microtus*, respectivamente. Las diferencias entre el tamaño de la camada, peso de los adultos y longitud de la estacionalidad fueron comunes a ambos géneros. El peso de los machos, el tiempo de gestación y peso neonatal así como la longitud de la estacionalidad son diferentes entre géneros. Pocos rasgos presentaron variaciones dentro de *C. gapperi*, *C. glareolus* o *M. pennsylvanicus*. De igual forma pocos rasgos mostraron diferencias entre todas las poblaciones de *Clethrionomys*. Sin embargo, entre todas las poblaciones de *Microtus* y las especies de *Microtus*, 11 y 12 correlaciones fueron significativas. Muchos de los patrones encontrados en *Microtus* involucran relaciones positivas entre peso de las hembras y algún otro rasgo. También encontraron que estos patrones de relación positiva son más amplios conforme aumenta el nivel taxonómico, Así mismo, las especies mayores de *Microtus* tienen mayor progenie y tamaño de camada, lo que ocurre en periodos menores, que en especies de menor tamaño del mismo género.

Este tipo de trabajos permiten el establecimiento de relaciones o diferencias, entre géneros de la subfamilia Microtinae y Cricetinae (según Hall, 1981) a partir de los rasgos que conforman los patrones reproductores de estos géneros.

1.1.2.3 *Peromyscus*

El género *Peromyscus* muestra una amplia variación en su estación reproductora, pues va de la no estacionalidad a una reproducción que dura unas cuantas semanas al año (Millar, 1989).

La generalización más simple es que el género *Peromyscus* se reproduce cuando las condiciones, en conjunto, son convenientes para lograr el aumento de la descendencia, con alguna variación intrapoblacional debido a las probabilidades locales de éxito. Las condiciones adecuadas para el éxito reproductor de una población varían geográficamente (Millar, 1989). En casi todos los casos registrados,

las hembras sobreviven solo lo suficiente para producir dos o tres camadas durante una estación reproductora, independientemente de la duración de ésta. Sin embargo, la frecuencia en la que las hembras se reproducen se incrementa al disminuir la duración de dicha estación. De este modo, la frecuencia de la reproducción postparto, en poblaciones naturales, parece mayor cuando las estaciones reproductoras son extremadamente cortas (Millar e Innes, 1985; Millar, 1989). Esta variación en la frecuencia de la reproducción, bajo diferentes condiciones estacionales, se refleja en la proporción (promedio y máximo) de hembras preñadas, la cual está negativamente relacionada con la duración de la estación reproductora (Millar, 1989).

El periodo del año en el que tiene lugar la reproducción en *P. maniculatus* decrece con la latitud y la longitud. El mejor descriptor de la duración de la estación de reproducción según Millar (1989) es:

$$Y = -33.0 + 2.79 X + 0.0748 Z - 0.0370 X^2$$

Donde Y = duración de la reproducción en semanas, X = latitud, y Z = Longitud.

El mejor descriptor geográfico de la duración de la estación reproductiva en *P. leucopus*, según Millar (1989) es:

$$Y = 30.5 - 0.853 X + 0.423 Z,$$

Donde Y = duración de la reproducción en semanas, X = latitud, y Z = Longitud

1.1.3 Condiciones Ambientales y Reproducción

1.1.3.1 Factores Biológicos

1.1.3.1.1 Nutrición

En cuanto a la disponibilidad de alimento se observa, generalmente, que los machos son menos susceptibles a la restricción del alimento que las hembras. Así mismo son menos susceptibles durante la ovulación y la preñez temprana que en la preñez tardía y la lactancia, esta última es la etapa más sensible. Por otro lado, tanto en machos como en hembras, la esteroidogénesis es más sensible a la restricción del alimento que la gametogénesis. (Bronson y Heideman, 1994; Merson y Kirkpatrick, 1981). La disponibilidad del alimento se considera un factor limitante de la

capacidad reproductiva, y cuando se proporciona alimentación suplementaria la estación reproductora se puede adelantar o ampliar en algunos roedores, sin embargo en *Peromyscus leucopus* no se observa esto cuando otro factor diferente a la disponibilidad del alimento limita la reproducción (Wolff, 1986).

Poco se sabe del papel que juega la dieta o los requerimientos nutricionales específicos en la reproducción de los mamíferos silvestres. La información que se tiene proviene de animales de laboratorio. Se considera que los nutrientes más importantes son los aminoácidos esenciales, ciertos ácidos grasos poliinsaturados, una variedad de minerales y algunas vitaminas (Bronson y Heideman, 1994). Es lógico pensar que el agua es fundamental para la producción de leche y por tanto puede ser un poderoso factor ambiental limitante de la reproducción (Baverstock y Watts, 1975). En *Peromyscus leucopus* se ha documentado experimentalmente el potencial de la variación en la disponibilidad del agua para producir la estación reproductora (Nelson y Desjardin, 1987).

La restricción del alimento en la rata de laboratorio deprime la secreción de las hormonas luteinizante (LH), del crecimiento (GH) y prolactina; con un menor efecto sobre la hormona estimulante de la tiroides (TSH). Por su parte, la hormona estimulante de los folículos (FSH) se ve afectada si la restricción alimenticia es prolongada y severa. En todas las especies examinadas el efecto inhibitorio de la restricción del alimento sobre la secreción de la LH parece deberse a la pérdida de la liberación episódica de GnRH de las neuronas hipotalámicas ya que no se ve afectado el contenido de GnRH hipotalámico, ni el de LH hipofisario, la sensibilidad de respuesta de la hipófisis a la GnRH, ni los niveles de LH circulante (Bronson y Heideman, 1994). Se considera que el mecanismo de comunicación entre el balance energético corporal y el pulso disparador de GnRH más probable es la regulación por los niveles de combustibles metabólicos circulantes. Sin embargo, existe poca información sobre otras posibles conexiones como podría ser la vía de los aminoácidos o bien una hormona metabólica o si existe un desarrollo directo acoplado entre el crecimiento somático y la liberación de la GnRH (Bronson y Heideman, 1994).

Independientemente de la naturaleza de la señal metabólica, un neurotransmisor debe ser la liga final entre ésta y el pulso generador del GnRH. En este sentido, se mencionan al glutamato y aspartato como posibles involucrados. (Ebling *et al.*, 1990). Entre las vías internas de control de la reproducción por la disponibilidad del alimento, además del eje GnRH-LH-esteroide gonadal se debe considerar el efecto sobre la GH, Prolactina y TSH, así como al eje CRF-ACTH-Esteroide adrenal así como la alteración de la secreción de la melatonina (Bronson y Heideman, 1994).

1.1.3.2 Factores Físicos

1.1.3.2.1 Altitud

La altitud por sí sola no causa variación en la estación reproductora, sino que, al variar la altitud varían otros factores ecológicos como son la precipitación pluvial y la disponibilidad de nutrientes; los cuales son los causantes de la variación del patrón de la estación reproductiva (Sadleir, 1969).

El inicio de la reproducción en especies con amplia distribución altitudinal, se presenta de modo tardío en las poblaciones que viven a mayor altitud en comparación a las que habitan en menores altitudes. Dunmire (1960) cita que poblaciones de *Peromyscus maniculatus* provenientes de California localizadas a una altitud de 3720 msnm, comienzan a reproducirse a finales del verano, no obstante, en la misma región, poblaciones que se encuentran a 2940 msnm o por debajo de esta altitud, comienzan a reproducirse en la primavera.

La variable ecológica que causa retraso de la estación reproductora, con respecto a la altitud, es la temperatura baja que predomina a mayores altitudes, ya que ésta retrasa el derretimiento de la cobertura de nieve y el crecimiento de la vegetación (Sadleir, 1969).

Las grandes altitudes pueden ocasionar efectos traumáticos en la reproducción de los mamíferos. La función testicular se ve fuertemente afectada en gatos, conejos y ratas que se mantienen a 3000 msnm. Así mismo, se ha demostrado que la exposición de ratas macho a una altitud cercana a los 6000 msnm

induce cambios degenerativos en la estructura testicular (Atland y Highman, 1968). Bishop y Walton (1960) han demostrado que la reducción de la función testicular es debido a la hipoxia.

1.1.3.2.2 Latitud

En general en las especies de mamíferos que habitan cerca de los polos el inicio de la estación reproductora ocurre claramente en fechas fijas del año, aunque, existen ligeras fluctuaciones; las especies que viven lejos de los polos y cerca del ecuador, presentan mayor variación en el inicio de la reproducción (Sadleir, 1969). Las especies animales con amplia distribución geográfica, manifiestan gradientes latitudinales pronunciados en la regulación y duración de la estación reproductiva. En los roedores la estación reproductiva tiende a ser larga en tanto menor es la latitud y lo opuesto ocurre a mayor latitud (Dark *et al.*, 1983)

Lackey (1978) y Dark *et al.* (1983) trabajaron con poblaciones de diferentes latitudes de *Peromyscus leucopus* y *Peromyscus maniculatus*, llegaron a la conclusión de que conforme aumenta la latitud decrece la sensibilidad a la respuesta del aparato reproductor, debido a cambios en el fotoperiodo por la variación de la latitud.

La latitud no sólo influye en la respuesta del aparato reproductor al inicio de la estación reproductora, sino también en el tamaño de la camada, que generalmente resulta mayor en las poblaciones del norte, que en las poblaciones de la misma especie, en el sur (Barkalow, 1962; Blus, 1966 y Lord, 1960).

1.1.3.2.3 Fotoperiodo

Se proponen por lo menos tres estrategias generales que presentan los mamíferos en la regulación de su estación reproductora por el fotoperiodo. A partir de información que se tiene de estudios realizados en *Peromyscus leucopus*, tanto en condiciones silvestres como de laboratorio, se considera que probablemente el género *Peromyscus* ha adoptado una de esas estrategias. Que consiste en la capacidad de reproducirse más de una vez al año, y la longitud de un día crítico

puede emplearse para iniciar o terminar la actividad gonadal, pero no ambas, y la determinación de la longitud de las estaciones reproductora y no reproductora depende de un intervalo de tiempo endógeno (Johston y Zucker, 1980; Lynch y Wichman, 1981; Forger y Zucker, 1985). Así mismo las especies que usan al fotoperiodo como sincronizador reproductor se han clasificado en dos grupos generales: reproductores de días largos y de días cortos. En el primer grupo se ubica el género *Peromyscus*.

La esperanza de vida y la latitud de residencia son los dos factores más importantes que determinan si un mamífero opta por el oportunismo, la influencia del fotoperiodo o por alguna otra clase de predictor. La vida corta y las latitudes bajas, generalmente, promueven el oportunismo, en tanto que la vida larga y la latitud alta promueven dependencia de la influencia del fotoperiodo. En los roedores la dependencia del fotoperiodo puede ser una fuerza importante a grandes latitudes. La supresión de la reproducción por la duración de los días cortos invernales es solamente una de las posibles adaptaciones, relacionadas con la energía, diseñadas para promover la supervivencia de los roedores durante los meses del año con climas rigurosos. Esto incluye ajustes estacionales en la conducta de forrajeo, en el metabolismo energético, en el torpor, en las mudas y en el aislamiento, y en algunos casos en cambios adaptativos en la masa corporal. Por lo tanto, en los animales de vida corta que viven en altas latitudes existe una negociación entre la ventaja de ser fotosensible y por ello, probablemente, vivir durante el invierno y la ventaja de no ser fotosensible, y el poder reproducirse durante el invierno si encuentra un microhabitat energéticamente permisivo. La dinámica que se presenta entre estas dos clases de ventajas está documentada en estudios realizados con roedores (Bronson y Heideman, 1994). En algunas poblaciones de muridos se presentan individuos que son reproductivamente fotosensibles, en tanto que en otros su reproducción es totalmente insensible al fotoperiodo, otros individuos presentan una respuesta intermedia. Las bases genéticas para esta clase de variaciones han sido confirmadas por experimentos de selección en una especie del género *Peromyscus* (Desjardins *et al.*, 1986).

La selección favorece la fotosensibilidad reproductora en los mamíferos pequeños de vida corta, conforme decrece la latitud, estos animales, probablemente, cesan principalmente el uso de esta estrategia y comienzan a ser rutinariamente oportunistas alrededor de los 30° de latitud (Desjardins y López, 1980; Lynch *et al.*, 1981; Dark *et al.*, 1983).

Otra fuente de variación en la respuesta al fotoperiodo, que se ha observado, es la experiencia. Pues los estudios realizados por Horton (1984) y Whitsett *et al.* (1984) sugieren que la longitud del día crítico en la cual un individuo responde, no se hereda de manera inmutable, sino que depende del grado de su experiencia. De una o de otra forma, la flexibilidad, tanto genética como experiencial, parecen ser la característica propia de las estrategias reproductoras de los pequeños roedores de vida corta.

Es importante considerar las investigaciones que se han realizado con *Peromyscus nudipes*, roedor de ambientes tropicales. En estos ambientes si bien la duración del día no varía en forma importante (de 1 hora anual a los 10° y 2 1/2 a los 20° de latitud) la lluvia impone una marcada estacionalidad en cuanto a la disponibilidad del alimento se refiere. Entre los roedores que habitan los trópicos suelen observarse patrones de reproducción estacionales y continuos (Bronson y Heideman, 1994). *P. nudipes* se reproduce sucesivamente solo durante la estación de lluvia. Durante el periodo de sequía las hembras ovulan y copulan de manera normal, pero la implantación no ocurre y la gestación no avanza. Este fenómeno se puede repetir en condiciones de laboratorio con una leve restricción del alimento. En diferentes experiencias en el laboratorio esta especie ha probado ser insensible a las variaciones del fotoperiodo, lo que muestra una estrategia oportunista durante la marcada estación reproductora. (Heideman y Bronson, 1992).

La comprensión de la regulación neuroendocrina del fotoperiodo, parte de las estructuras anatómicas participantes. En este sentido, se habla de la vía retino-hipotálamo-pineal. El mecanismo propuesto se inicia con un estímulo lumínico que activa a los fotorreceptores de la retina, transformándose en energía electroquímica, que es transmitida al núcleo supraquiasmático del hipotálamo a través del tracto

retinohipotalámico. Después de interactuar con los sistemas circádicos, la información fótica es retransmitida a la columna intermedio lateral que inhibe al ganglio cervical superior. Este es una estructura simpática que inerva mediante terminaciones noradrenérgicas a la pineal, la cual traduce el mensaje neural a señales hormonales en forma de un ritmo circadiano de secreción de melatonina. La oscuridad promueve la secreción de noradrenalina por el ganglio cervical superior, la acción de esta en la pineal, origina mayor producción de AMPc, aumenta la incorporación de triptofano, induce la activación catalítica de la N-acetiltransferasa y de la hidroxindol-O-metiltransferasa, y en consecuencia la síntesis y liberación de melatonina. La duración del día aumenta o disminuye la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa de estradiol, lo que modifica la producción de pulsos de GnRH, alterándose la frecuencia de secreción de LH. Por lo tanto, los cambios resultantes en el patrón episódico de secreción de gonadotropinas, determina que se pueda presentar o no el ciclo estral. En los reproductores de días largos se le atribuye a la melatonina un papel antigonadotrópico (Malpoux, 2006).

Los estudios que presentan un gran interés sobre los mecanismos neuroendocrinos involucrados en la regulación de la actividad reproductora, son aquellos realizados con individuos no sensibles. El interés además se extiende hasta la evolución de la respuesta reproductora no fotosensible.

Las bases genéticas para las diferencias individuales en la fotosensibilidad reproductora que se han observado en *Peromyscus leucopus* y *Peromyscus melanotis* se han podido verificar por experimentos clásicos de selección. Algunos individuos de estas especies no pueden responder reproductivamente a días cortos, y el bloqueo a la fotosensibilidad parece encontrarse a nivel de receptores de la melatonina. Estos animales secretan, aparentemente, melatonina de manera normal, pero no responden a ella (Carlson *et al.*, 1989). Los estudios de receptores de melatonina no muestran diferencias evidentes en el número, actividad o distribución anatómica de los receptores de melatonina en el cerebro de individuos fotosensibles y no sensibles (Weaver *et al.*, 1990).

1.1.3.2.4 Temperatura

En lo que a la temperatura se refiere, debido a que los mamíferos responden con diferentes clases de ajustes metabólicos y conductuales a las temperaturas altas y bajas, sus efectos sobre la reproducción se consideran por separado. Poca es la información que se tiene sobre los efectos de las altas temperaturas sobre mamíferos silvestres en sus habitats naturales (Bronson y Heideman, 1994).

Con respecto a la influencia de las bajas temperaturas sobre la reproducción, debe señalarse que no se puede considerar de forma independiente a la ingesta de alimento. Lo anterior queda expresado en la ecuación energética que establece que las calorías asimiladas se reparten entre una variedad de demandas en competencia, por lo cual, el incremento en una de esas demandas se balancea incrementando la ingesta de alimento o bien a expensas de alguna demanda. Las demandas que compiten en forma intensa con la reproducción son el mantenimiento celular, la termoregulación y la locomoción asociada a la búsqueda de alimento. Las respuestas de los mamíferos a las bajas temperaturas difieren marcadamente de acuerdo al tamaño de los mismos, ya que sus reservas energéticas son distintas. Considerando las características propias del tamaño del cuerpo se observa la tendencia general a que disminuya la frecuencia de la estación reproductora, así como su extensión (Bronson y Heideman, 1994). A partir de esta tendencia se puede analizar la estacionalidad de la reproducción con el tamaño del cuerpo, el tiempo de vida y la latitud.

La información que se tiene del efecto de la temperatura sobre la secreción de gonadotropinas proviene de investigaciones en la rata o en ganado ovino y bovino. En el primer caso se reportan efectos marginales del frío sobre la secreción de las hormonas de la reproducción; en tanto que el calor produce una depresión en los niveles circulantes de LH y testosterona, así como un incremento en los niveles circulantes de corticosterona. En el ganado se observa una depresión en la secreción de gonadotropinas, correlacionado con un incremento en la actividad del eje CRF-ACTH-Adrenal (Hormona Liberadora de Corticotropina-Hormona Hipofisaria Adrenocorticotrópica-Adrenal). En estos estudios se reporta un incremento en la

secreción de Prl (Prolactina). Desafortunadamente en estas investigaciones no se ha profundizado en la regulación neuroendocrina que desencadena la variación de la temperatura ambiental (Bronson y Heideman, 1994).

1.1.3.2.5 Precipitación pluvial

Es difícil determinar los efectos de la precipitación pluvial, ya que ésta puede actuar de manera directa, o de manera indirecta causando el crecimiento de la vegetación, lo que provoca un aumento en el suplemento nutricional.

Bronson y Heideman (1994) citan la realización de un estudio sobre el efecto individual de la lluvia en conejos (*Oryctolagus cuniculus*) en el oeste de Australia.

1.1.3.3 Factores Sociales

Los factores sociales interactúan con la disponibilidad del alimento, la temperatura y el fotoperiodo, de manera que sincronizan el inicio o terminación de la estación reproductora e influyen marcadamente en el éxito reproductor, durante esta estación. En dos fenómenos conocidos se presenta, generalmente, la interacción de los factores mencionados anteriormente:

1) en el primero, un estímulo social específico actúa a través de la vía de diferentes modalidades sensoriales precisas, para modular determinados procesos reproductores, por ejemplo la ovulación. Uno de los ejemplos más conocidos de este tipo de estimulación es el que involucra agentes químicos (como las feromonas) y la mediación vomeronasal, suplementada con agentes táctiles o auditivos.

2) en el segundo fenómeno, los conflictos sociales provocan estrés neuroendocrino por la vía del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. En este caso se debe visualizar a una variedad de estímulos sociales no específicos que actúan a través de vías multisensoriales para generar un estado emocional complejo, que a su vez, induce respuestas de estrés, incluida la depresión de componentes del proceso reproductivo, por ejemplo la alteración de los pulsos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).

Un ejemplo de el segundo fenómeno es el que presenta *Peromyscus*

maniculatus (Whitsett y Lawton, 1982; Bronson, 1985) en el que la interacción del fotoperiodo con un factor social desdibuja la parte final de la estación reproductora. En este caso una población fotosensible de *P. maniculatus* en ausencia del estímulo de días largos y de la presencia de hembras maduras sexualmente (factor social) produce una condición de órganos reproductores con peso propio de individuos inmaduros. Condición que se mantiene hasta los 6 a 7 meses de edad, periodo de tiempo que coincide, aproximadamente, con la duración de la estación no reproductora característica de otras poblaciones que se encuentran en el área de la población reportada.

Terman (1973) estudió el efecto que presenta la densidad de población sobre la maduración sexual en *Peromyscus maniculatus*. Él determinó que al aparejar un individuo joven con un adulto del sexo opuesto, el primero madura entre 5 a 8 semanas de edad. Mientras que los individuos que nacen y se crían en poblaciones libres, densas en crecimiento, cerca del 95% de los individuos no son fértiles hasta después de los 90 días de edad, y por supuesto, muchos mueren incluso al año de edad, sin haber alcanzado la fertilidad. El grado de los efectos del hacinamiento observados sobre la maduración en *P. maniculatus* en condiciones de cautiverio es difícil extrapolarlo a condiciones silvestres. En los estudios que reportan una relación entre los factores sociales y la reproducción, el grado en el cual el estrés y los factores ferhormonales, en forma simultanea o por separado influyen en la reproducción no es claro (Lusk y Millar, 1989).

En cuanto a la regulación neuroendocrina de estos factores sociales dos son los tipos de respuestas: las directas a las ferhormonas y los estímulos táctiles, así como a las no específicas, resultantes del estrés de altas densidades de población y específicamente de la subordinación social. Las hormonas hipofisarias que responden directamente a las ferhormonas son la LH y la prolactina, mediada ésta última por un sistema dopaminérgico, en tanto que, no existen evidencias sobre la acción directa en la FSH. En relación al estrés social no se puede decir que este tenga un efecto potencial marcadamente supresor de la reproducción. Una amplia variedad de estímulos físicos y estados emocionales, incluidos aquellos que son de

origen social pueden incrementar la actividad del eje CRF-ACTH-esteroides adrenocorticales y el incremento de esta actividad suprimir una variedad de procesos de reproducción. El CRF y los péptidos derivados del POMC ACTH y β -endorfinas pueden actuar en el cerebro para inhibir la liberación de GnRH; y todas estas entidades puedan interferir sobre el efecto estimulador de la LH sobre la esteroidogénesis gonadal. La información anterior proviene de diferentes mamíferos pues no existen datos al respecto del género *Peromyscus* (Bronson y Heideman, 1994).

1.1.4 Regulación Neuroendocrina

El eje hipotálamo-hipófisis-gónada (h-h-g) que regula la secreción de LH, FSH y esteroides gonadales, representa el núcleo central de la regulación integrada de los factores ambientales sobre la estacionalidad reproductora. Esto incluye el pulso generador de GnRH, los elementos neurales que regulan la actividad de este generador en forma directa y aquellos elementos involucrados en su regulación indirecta vía la acción de la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales (Figura 1).

CONTROL AMBIENTAL DE LA REPRODUCCIÓN EN MAMÍFEROS

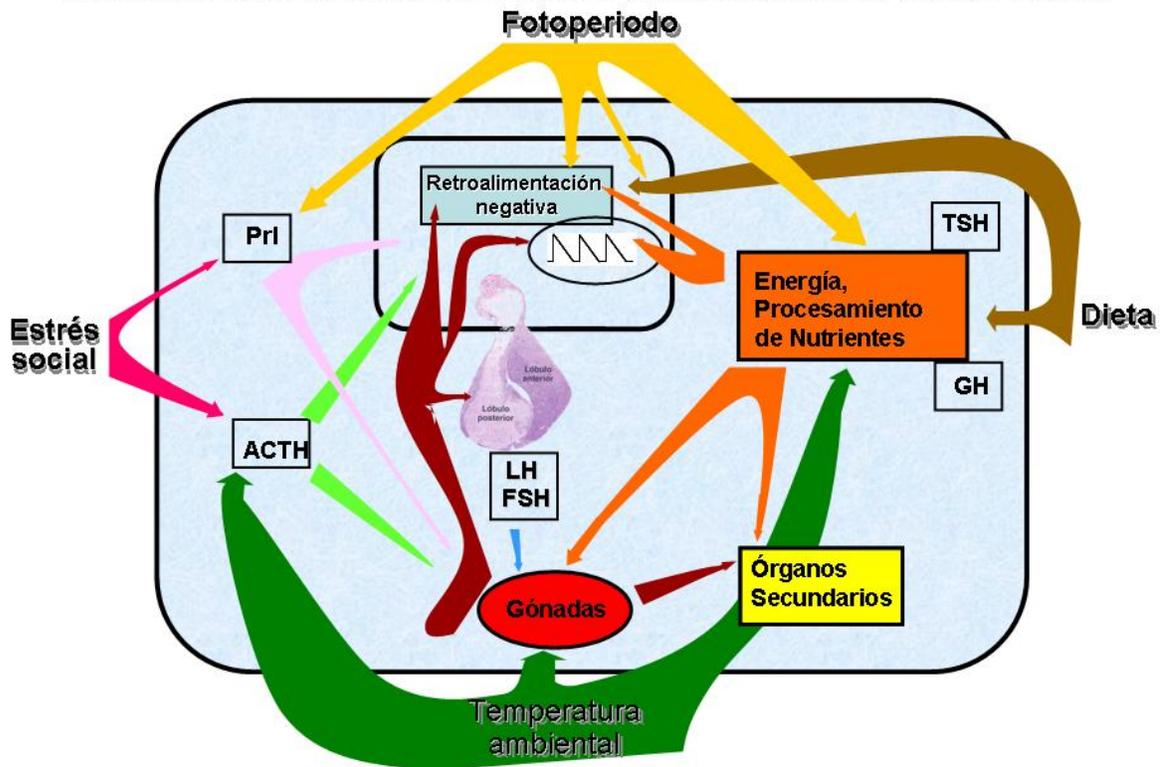


Fig. 1. Factores ambientales que influyen en la reproducción y su regulación neuroendocrina (Bronson y Heideman, 1994).

Gráficamente, alrededor del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, se encuentran otras respuestas hormonales de importancia, y sobre el exterior del área enmarcada se encuentran las influencias ambientales de mayor efecto para la estacionalidad reproductora en los mamíferos. Algunos de estos factores operan directamente sobre el pulso generador GnRH, algunos operan tanto directa como indirectamente sobre vías alternas de la retroalimentación negativa, y algunas influyen en la frecuencia del pulso GnRH sobre el circuito principal, a través de otras hormonas tróficas o vía el procesamiento de energía.

El alimento es conceptualizado aquí, una vez que ha sido asimilado, después de lo cual sus diferentes componentes son divididos entre las necesidades

reproductoras y no reproductoras. Poco se sabe acerca de estos procesos de distribución. La insuficiencia del alimento deprime la liberación de GnRH tanto directamente como por la vía del incremento de la sensibilidad de la retroalimentación negativa. Aquí es importante hacer notar la supresión de la secreción de GH, TSH y prolactina. Estos cambios hormonales se producen en un nivel por debajo del factor liberador GnRH e hipotalámico. Debido a que existe una profunda carencia de conocimiento sobre la temperatura ambiental, de manera esquemática se representa sólo la influencia en el proceso de división de la energía como estresor, o la influencia directa del calor sobre los testículos (Goodman, 1999).

La acción del fotoperiodo es visualizada como un factor que actúa tanto directa como indirectamente sobre la secreción de GnRH y sobre la secreción de gonadotropinas, sobre la secreción de prolactina y sobre otras dimensiones de la energía y del procesamiento de nutrientes. En tanto que, la regulación estacional de TSH y GH en la respuesta al fotoperiodo en los mamíferos es considerada como importante (Goodman, 1999).

El compuesto vegetal secundario que se sabe que actúa como un predictor, se muestra simplemente como un vago efecto sobre la liberación de la GnRH. Se presentan las vías conocidas que son empleadas por los factores sociales y los estímulos emocionales no específicos. En este sentido, se debe tener en cuenta que algunos estresores pueden actuar ampliamente sobre la secreción de todas las hormonas tróficas de la hipófisis (Goodman, 1999).

II. ANTECEDENTES

2.1 Desarrollo y Reproducción

El desarrollo ontogenético abarca diferentes estadios en los cuales se presentan rasgos que los caracterizan. Entre los más estudiados se encuentran: el desarrollo prenatal, el parto, el crecimiento y desarrollo de los neonatos, la edad al destete y el crecimiento posterior al destete.

Los rasgos reproductivos de los roedores que han sido ampliamente estudiados para entender como los factores ambientales influyen en la regulación de los patrones reproductores son: la maduración, el tamaño de la camada, el costo energético de la reproducción y la estación reproductora.

Es innegable la importancia del género *Peromyscus* como modelo de estudio para establecer las relaciones entre los patrones de reproducción y desarrollo con las condiciones ambientales. Los estudios que se han realizado con especies de este género han contribuido a la profundización del conocimiento sobre estas relaciones así como de los mecanismos fisiológicos involucrados.

A continuación hacemos un análisis general de los enfoques y tendencias de estos estudios.

En primer lugar es importante mencionar el trabajo de Layne (1968), en el que obtiene indicios del grado de influencia de las relaciones filogenéticas y ecológicas sobre los patrones de crecimiento, desarrollo y aspectos reproductores. Como parte del análisis de los datos manejados por este autor se observa una tendencia de desarrollo y crecimiento más lento conforme aumenta el tamaño corporal. Sin embargo, existen excepciones pues algunas especies mayores exceden en sus tasas de crecimiento a especies de menor tamaño. Se observa, también, una tendencia de relación inversa entre el tamaño de la camada y el tamaño neonatal.

2.1.1 Desarrollo prenatal

Para comparar el periodo de gestación en *Peromyscus*, se tienen datos útiles

de 15 especies. De esta comparación se desprenden tres relaciones significativas: a) los periodos de gestación se incrementan de manera directa con respecto a los pesos de los adultos, por lo menos entre hembras gestantes; b) los neonatos grandes son resultado de largos periodos de gestación y c) las camadas grandes están asociadas con periodos de gestación cortos. Sin embargo, las tasas de crecimiento fetal, calculadas de los periodos de gestación y de los pesos de los neonatos, no se relacionan de manera significativa con el tamaño de los adultos o el número de jóvenes por camada (Millar, 1989).

2.1.2 Parto.

En la literatura se ha reportado el rango de tiempo en el que ocurre el parto, el cual va de menos de una hora hasta varias horas. En cautiverio las hembras pueden presentar antagonismo hacia el macho durante el parto. Dado que en el género se presenta tanto monogamia como promiscuidad, se considera que puede presentarse una variedad de cuidados paternos. Los neonatos son altriciales, con un desarrollo de respuestas motoras pobres (Millar, 1989).

El tamaño de los neonatos parece ser importante para su supervivencia, pues Myers y Master (1983) encontraron que los neonatos de *P. maniculatus* con un peso menor de 1.30 g no sobreviven más de 24 horas. Los pesos de los neonatos varían dentro y entre poblaciones en una especie y entre las especies. La variación intrapoblacional en el peso de los neonatos se atribuye a numerosos factores. Por ejemplo, Carmon *et al.* (1963), determinaron que 67% del total de las variaciones en el peso de los neonatos de *P. polionotus*, son debidas al efecto materno. Se ha reportado, también, en *P. maniculatus* que las hembras grandes producen mayor descendencia que las hembras pequeñas (Millar, 1985; Myers y Master, 1983), aunque la relación entre el peso de las hembras y el peso de los neonatos no es del todo clara (Millar, 1982, 1983). El peso de los neonatos se relaciona negativamente al tamaño de la camada en poblaciones de *P. maniculatus*, *P. leucopus*, *P. yucatanicus* y *P. melanocarpus*. El peso de los neonatos es variable entre poblaciones, por lo que no es predecible geográficamente (Millar, 1989).

2.1.3 Crecimiento y desarrollo de las crías.

Poco se ha investigado sobre el crecimiento y desarrollo de *Peromyscus*. Esto propicia que, tanto el crecimiento, las características de desarrollo, así como las relaciones entre crecimiento y tasas de desarrollo no puedan ser determinadas (Millar, 1989). Sin embargo, se ha establecido la relación entre la edad en la cual las crías abren los ojos y el tamaño del adulto, tamaño de la camada, tamaño de los neonatos y tasa de crecimiento. Entre poblaciones de *P. maniculatus*, los jóvenes de cuerpos grandes y los neonatos de tamaño grande abren los ojos a edades tardías, mientras que la edad en la que abren los ojos no varía significativamente con el tamaño de la camada (Millar, 1989). Entre especies no existe una relación significativa entre el tamaño de la camada y la edad en la cual abren los ojos, pero ésta se encuentra positivamente relacionada con el tamaño del adulto y el tamaño de los neonatos. También se presenta una relación positiva con la edad en la que las pinas auditivas son liberadas, así como la edad en la que brotan los incisivos inferiores y superiores, y la edad en la que abre el meato auditivo. Estos datos indican, generalmente, que las especies de cuerpos pequeños se desarrollan más rápidamente que las especies de cuerpo grande (Millar, 1989).

2.1.4 Edad al independizarse de las crías.

Para determinar esta edad se han empleado diferentes indicadores. Se presentan variaciones en la edad de independizaje de acuerdo al tipo de indicador considerado (Millar, 1989). La variación de la edad de independencia entre poblaciones no ha sido estudiada de manera específica, aunque las observaciones cualitativas recopiladas por Layne (1968) indican que las hembras no preñadas alimentan a sus camadas durante más tiempo que las hembras preñadas y que las camadas que nacen al final de la estación reproductora permanecen más tiempo con las hembras, que aquellas que nacen al inicio de la estación reproductora.

La edad al independizarse es difícil compararla entre poblaciones por los diferentes tipos de metodologías empleadas, sin embargo el método de King *et al.*

(1963) ha sido el método empleado en un número suficiente de poblaciones para poder realizar una comparación. El resultado de esta estimación señala que la edad al independizarse, entre poblaciones de *P. maniculatus*, se encuentra en el intervalo de 18 a 25 días. El tamaño al independizarse está relacionado positivamente a la edad, pero ésta no varía significativamente con el tamaño del adulto o el tamaño de la camada (Millar, 1989). No existen ejemplos suficientes para una amplia comparación entre especies, pero las edades de destete son similares en especies de tamaño corporal grande, como *P. melanocarpus* y *P. mexicanus* y de tamaño pequeño, como *P. maniculatus* y *P. leucopus* (Millar, 1989).

2.1.5 Crecimiento y desarrollo postdestete.

En *P. maniculatus* el crecimiento postdestete no varía estacionalmente o consistentemente con el habitat. En cautiverio la tasa de crecimiento varía de 0.030 a 0.091. Los ejemplos son pocos para comparar el crecimiento postdestete con el peso del adulto, el tamaño de la camada o el crecimiento de las crías, sin embargo los machos crecen más rápidamente que las hembras en dos de los tres casos (Millar, 1989). El dimorfismo de pesos favorece a los machos en *P. maniculatus* y *P. leucopus* (Dewsbury *et al*, 1980).

Entre especies, el crecimiento postdestete está correlacionado con el crecimiento de las crías y se encuentra en el intervalo de 0.022 a 0.07, incrementándose cuando aumenta el tamaño de la camada y decrece cuando se incrementa el tamaño del adulto (Millar, 1989). Dewsbury (1992) destaca la importancia de la influencia de la historia reproductiva en la investigación sobre el tamaño y la masa corporal individual de *P. maniculatus*. En tanto que Kaufman y Kaufman (1994) resaltan la variación del efecto del estrés de acuerdo a la edad, sexo y condición reproductora de los ejemplares.

2.1.6 Maduración.

La edad de maduración tiene una gran influencia sobre la dinámica poblacional y la producción de descendencia potencial dentro de cada linaje.

Las observaciones sobre la edad a la que maduran sexualmente las hembras en las colonias de laboratorio de 12 especies del género *Peromyscus* (*P. maniculatus*, *P. leucopus*, *P. polionotus*, *P. mexicanus*, *P. gossypinus*, *P. crinitus*, *P. boylii*, *P. megalops*, *P. eremicus*, *P. floridanus*, *P. yucatanicus* y *P. melanocarpus*) muestran que se alcanza al menos a los tres meses de edad, aunque las especies de cuerpo grande tienden a madurar más tarde que las especies de cuerpo pequeño. Algunos estudios en poblaciones silvestres indican que la edad en la que se inicia la primera crianza es similar a la que se presenta en condiciones de laboratorio. Sin embargo, también, se encuentran poblaciones silvestres en donde la maduración se alcanza a una edad mayor que en cautiverio (Millar, 1989).

A pesar de que conoce poco sobre los patrones de maduración en los machos, existe información, en algunos, casos en los que el macho madura antes que la hembra (Millar, 1989).

2.1.7 Tamaño de la camada

El tamaño de la camada varía con el número de partos, las primeras camadas son, consistentemente, más pequeñas que las subsecuentes. La mayor diferencia aparece entre la primera y la segunda camada (Millar, 1989). El tamaño de la camada no varía con la edad de la hembra y es heredable, aunque se ve influenciada por un efecto materno negativo. De esta manera, si hembras grandes producen camadas grandes de neonatos pequeños, éstos en su oportunidad serán adultos pequeños que producirán camadas pequeñas de neonatos grandes (Millar, 1983).

Se han reportado cambios estacionales, pero no son consistentes, ya que algunas poblaciones no muestran alguna tendencia en el tamaño de la camada, en tanto que otras tienden hacia mayores camadas al inicio de la estación reproductora, mientras que otras muestran un incremento en el tamaño de la camada conforme

avanza la estación reproductora (Millar, 1989). Heideman y Bronson (1993) encontraron que en una población de *Peromyscus nudipes* la frecuencia de las camadas y la duración de la estacionalidad son influidas por la disponibilidad del alimento.

En *P. maniculatus* la temperatura ambiental tiene un efecto sobre el desarrollo temprano de los individuos que a su vez afecta el tamaño de la camada. Myers *et al.* (1985), encuentran que las camadas grandes están asociadas con altas temperaturas en la primavera y las camadas pequeñas están asociadas con bajas temperaturas en el otoño. Las pequeñas camadas, también están asociadas con fuertes lluvias. Se considera que las diferencias en el tamaño de la camadas en años diferentes pueden ser en respuesta a diferentes condiciones ambientales (Fuller, 1969). El número de crías por camada no varían con el tamaño de las cosechas de semillas ni con el habitat. En general, *Peromyscus* exhibe diferencias dentro de las poblaciones, pero no se puede considerar que exhiban una gran plasticidad fenotípica (Millar, 1989)

La variación en el tamaño de la camada entre poblaciones de *P. maniculatus* y *P. leucopus* no está relacionada con el tamaño del adulto, sin embargo, se sugiere que existe una serie de factores geográficos que pueden afectar el tamaño de la camada en estas dos especies. Se reporta incremento en el tamaño de la camada cuando se incrementa la altura, sin embargo, también existen datos que indican lo contrario, algo similar ocurre con respecto a la latitud, pues existen datos contradictorios (Millar, 1989). La altitud y la latitud en conjunto explican un número significativo de variaciones en el tamaño de la camada entre poblaciones de *P. maniculatus*, no así en cuanto a la duración de la estación reproductora (Millar, 1989).

Los datos compilados indican que el tamaño de la camada varía geográficamente, tanto en *P. maniculatus* y *P. leucopus*. Entre todos los registros para *P. maniculatus*, el mejor descriptor del tamaño de la camada relaciona tamaño de la camada con la latitud y la longitud:

$$Y = -1.62 + 0.0103X + 0.106 Z + 0.0004 X^2 - 0.0005 Z^2$$

Donde Y = tamaño de la camada; X = latitud y Z = longitud

La predicción del tamaño de la camada de *P. maniculatus* parece mayor en el Noroeste de Norteamérica.

Entre todos los registros para *P. leucopus*, el mejor descriptor del tamaño de la camada

$$Y = -11.4 - 0.411X - 0.0136Z + 0.0065 X^2$$

Donde Y = tamaño de la camada; X = latitud y Z = longitud

La predicción del tamaño de la camada de *P. leucopus*, también parece mayor en el Noroeste de Norteamérica (Millar, 1989).

Las comparaciones que incluyen a varias especies muestran un incremento en el tamaño de la camada con la altitud (Smith y McGinnis, 1968) y la latitud (Millar *et al.*, 1979; Smith y McGinnis, 1968), pero estas relaciones son confusas por los efectos del tamaño corporal. Por ejemplo, el tamaño de la camada claramente es negativo, relacionado con el tamaño corporal entre especies, y todas las especies de cuerpo grande se distribuyen hacia el sur (Millar, 1989).

2.1.8 Costo y metabolismo energético

Los datos sobre los costos energéticos de la reproducción son insuficientes para compararlos entre poblaciones de *P. maniculatus*, pero entre todas las poblaciones y especies, son indicativos de que la ingestión de alimento tiende a incrementarse cuando se incrementa el tamaño de la camada. Las consecuencias del incremento en las demandas alimentarias bajo condiciones naturales no son conocidas.

Los trabajos publicados sobre el metabolismo energético y su relación con la reproducción y el desarrollo, aportan conceptos importantes que se pueden resumir en: los patrones de covariación entre tamaño corporal, tasa metabólica y algunos

rasgos del desarrollo y de la reproducción en tres poblaciones de *Peromyscus maniculatus* son evidentes interespecíficamente, pero no intraespecíficamente (Earle y Lavigne, 1990). El almacenamiento de grasa es diferente entre sexos y en la hembra ésta tiene prioridad sobre el crecimiento y la fertilidad (Perrigo, 1990). En el género *Peromyscus* la conversión del alimento materno neto varía independientemente de la masa corporal (Glazier, 1990a). La gestación parece ser más eficiente que la lactancia en el uso de la energía materna disponible (Glazier, 1990b).

2.2 Características Reproductoras del Género *Peromyscus*

Al enfocar la atención específicamente sobre el género *Peromyscus*, se encuentran algunos trabajos orientados a la determinación de los patrones reproductores y la relación que éstos guardan con diferentes factores. Así se destacarán algunos trabajos que han aportado información integral del género, objeto de este estudio.

2.2.1 Anatomía del aparato reproductor

Es innegable la importancia de la información sobre la anatomía de los órganos como punto de partida en el estudio de los procesos fisiológicos. A pesar de esto, los estudios sobre la anatomía del aparato reproductor de especies del género *Peromyscus* son escasos. Pournelle (1952) en un estudio exhaustivo sobre la reproducción y el desarrollo postnatal temprano de *P. gossypinus*, relaciona la longitud de los testículos de individuos de 35, 38, 40, 42, 45, 50, 55, 60, 65, 70 y 72 días de edad, con la presencia de espermatozoides en el epidídimo y el testículo. A partir de lo anterior determina que la talla de los testículos de los individuos maduros es mayor a 7.5 mm.

Entre los estudios más relevantes se encuentran el de Arata (1964), que realiza un análisis comparado del tracto genital masculino de varios roedores entre ellos *Peromyscus gossypinus*. Es importante mencionar, también, el estudio realizado por Linzey y Layne (1969) sobre el tracto genital masculino, en el que

pusieron particular atención en las glándulas accesorias (ampular, vesicular; próstata anterior, dorsal y ventral; bulbo-uretral y prepucial). A partir de sus resultados establecen las relaciones filogenéticas entre los subgéneros de 28 especies del género *Peromyscus*. Los resultados de los trabajos antes mencionados indican que la anatomía básica del aparato reproductor masculino del género, es similar a la de *Mus musculus*. Sin embargo, existen diferencias significativas en cuanto al desarrollo de las glándulas accesorias del tracto genital, incluso se mencionan especies en las que algunas de estas glándulas no se presentan.

Dada la importancia taxonómica del pene, son varios los trabajos que abordan su estudio comparado y son recopilados por Hooper (1968). Con respecto al aparato reproductor femenino no existe información equivalente, lo que obedece al señalamiento de que el tracto reproductor es similar al de otros roedores.

Linzey y Layne (1969) tratan de establecer relaciones filogenéticas entre los subgéneros del género *Peromyscus*, a partir del tracto genital masculino y en particular las glándulas accesorias.

De Vries y Boyle (1998) hacen una revisión acerca de la información en la que se describen diferencias anatómicas en los cerebros de vertebrados de diferentes sexos. En el caso de los mamíferos presentan información de algunos roedores, entre ellos *Peromyscus californicus*. Esta revisión toma en cuenta la posibilidad de que las diferencias sexuales en el cerebro manifiesten conductas diferentes y similares entre los dos sexos. Específicamente, las diferencias sexuales pueden permitir a los machos y a las hembras desplegar conductas marcadamente similares, a pesar de las grandes diferencias en sus condiciones hormonales y fisiológicas. Los autores consideran varios aspectos: primero, las dificultades en interpretar la relación entre estructura y función del dimorfismo sexual del área preóptica media en la conducta sexual del macho y la conducta paterna; segundo, el dimorfismo sexual en la inervación de la zona secretora de vasopresina del cerebro se presenta como un sistema que al parecer promueve y en algunos casos previene las diferencias sexuales en la conducta.

2.2.2 Patrones de reproducción

El estudio de los patrones de reproducción en el género *Peromyscus*, en los últimos años, se ha orientado a la determinación de la influencia que tienen sobre ellos ciertos factores ambientales, tales como, el fotoperiodo, la calidad y cantidad de alimento así como la disponibilidad de agua. En este sentido, Nelson *et al.* (1995) en *Peromyscus californicus* encontraron que al disminuir la disponibilidad de agua de manera experimental (simulando la escasez característica del verano) se reduce la masa del aparato reproductor y los niveles plasmáticos de prolactina. Por lo que la restricción del agua puede ser un factor ambiental que limite la reproducción, independientemente del fotoperiodo y la disponibilidad de alimento. Morton *et al.* (1995), trabajando con *P. truei* y *P. maniculatus* al analizar parámetros tales como masa corporal, masa del hígado, adrenales, riñones y órganos reproductores encuentran que la disponibilidad del agua puede ser considerada un factor que afecta la tasa de nacimientos y el periodo de reproducción.

Algunos roedores tropicales como *P. nudipes* presentan estrategias reproductoras en las que cuando las condiciones son adversas aunque machos y hembras son fértiles y la fecundación ocurre, la implantación no es exitosa; en caso de que ésta llegara a ocurrir, se produce una reabsorción. Esta estrategia con un costo energético y predestinado a una reproducción no exitosa se denomina pseudo-reproducción. En la determinación de esta estrategia parecen ser más importantes el alimento y agua disponible que el fotoperiodo (Heideman y Bronson, 1992).

También, se ha considerado la influencia que la agricultura tiene sobre ciertas poblaciones de *Peromyscus leucopus* (Cummings y Vessey, 1994). En estudios en los cuales se ha determinado la reproducción en hábitats diferentes, observando que es mayor en los bosques y en los linderos de éstos y menor en las zonas de cosecha, zanjas y granjas que son utilizadas como rutas de dispersión que facilitan el movimiento dentro y fuera de las áreas de mayor reproducción.

Moffatt *et al.* (1993), a partir de la movilidad de poblaciones de *Peromyscus maniculatus*, sugieren que la actividad locomotora disminuye durante el invierno, a fin de contar con la energía necesaria para reproducirse.

Los estudios en el ámbito de la regulación endocrina de la reproducción, también son importantes. Así se tiene que Ransone y Bradley (1992), determinaron peso corporal, peso de los órganos reproductores, peso de la glándula adrenal y concentración de corticosterona sérica en animales con la capacidad reproductiva inhibida. Al parecer esa inhibición es un mecanismo que presenta *Peromyscus leucopus* y *Peromyscus maniculatus* para regular el crecimiento poblacional en condiciones de alta densidad o hacinamiento. Encontraron reducción de peso corporal y en los órganos sexuales, no así en la glándula adrenal, que no varió con respecto a los controles. En los animales inhibidos, la concentración de corticosterona fue significativamente superior que en los controles. Estos resultados muestran una aparente paradoja de concentraciones de corticosterona elevadas en ausencia de hipertrofia adrenal.

Hogg *et al.* (1992), administraron triyodotironina (T3) para elevar los niveles séricos de hormona tiroidea en poblaciones de *P. Maniculatus bairdii* inhibidas reproductivamente. Analizaron el peso e histología de testículo y vesículas seminales, así como ovario y útero. La limitada recuperación de la capacidad reproductora después de la administración de T3 indica que la actividad de la glándula tiroidea puede estar relacionada, pero no es la causa directa de la inhibición reproductora observada en algunas poblaciones.

Blank y Freeman (1991), sugieren que la respuesta diferencial testicular a fotoperiodos cortos, en *P. maniculatus nebrascensis*, es causada por un mecanismo post-pineal.

Por otro lado se aprecia interés por conocer sobre el comportamiento de poblaciones con diversas características, por ejemplo Jiménez *et al.* (1994) demostraron que la endogamia tiene un efecto significativo, que deprime la supervivencia de los ratones en condiciones de cautiverio, que son reintroducidos en un hábitat natural, observando que este efecto es más severo que el observado en estudios en poblaciones de laboratorio.

Se han realizado estudios para determinar las propiedades y consecuencias de un anidamiento en condiciones aisladas o en comunidad de *P. leucopus* y *P.*

maniculatus (Wolff, 1994). Se sugiere que el anidamiento solitario es el patrón de crianza común en *Peromyscus*, y el anidamiento en familias y comunidades son las tácticas de reproducción en respuesta a espacio limitado, dispersión y agrupamiento local entre familias relacionadas.

En estudios para determinar el efecto de la densidad poblacional sobre la reproducción de *P. leucopus noveboracensis*, Terman (1993), al analizar los cambios en el peso corporal y de órganos reproductores, observa un retraso significativo en la reproducción, no coincidente con las alteraciones de la densidad poblacional.

Heideman y Bronson (1993), comparan algunos patrones reproductores de dos poblaciones de *P. nudipes*: una silvestre y otra en condiciones de cautiverio, no encontrando diferencias significativas en el tamaño de la camada. En tanto que la madurez sexual, tanto en machos como en hembras, se ve diferida temporalmente en condiciones silvestres con respecto a la población de laboratorio, además la frecuencia de camadas por año, es superior en condiciones de cautiverio.

Se han realizado también estudios para determinar como se ve afectada la reproducción, la conducta paterna, la supervivencia de las crías, el desarrollo físico y el crecimiento en roedores criados por padres adoptivos interespecíficos e intraespecíficos (Hawkins y Cranford, 1992). *P. leucopus* no se ve afectado en ninguno de los dos casos, mientras *P. maniculatus* presenta fuertes variaciones cuando la crianza es interespecífica, en tanto que muestra pocas variaciones en la intraespecífica. La conducta paterna no se ve modificada en ningún caso.

Dewsbury (1992), señala que en los estudios sobre tamaño corporal es importante considerar no solo el estado reproductor, sino también la actividad reproductora pasada. Terman (1992), encuentra que hay una influencia en la capacidad de reproducción de *P. leucopus noveboracensis*, en la crianza, en presencia de adultos de uno y otro sexo. Ya que se alcanza la madurez sexual en forma precoz, si la crianza, después del destete se lleva a cabo en presencia de un adulto, sea hembra o macho.

En otra línea de investigación, se considera también, el efecto que tienen ciertos factores químicos sobre los procesos de reproducción. McCoy *et al.*

(1995) muestran que la exposición crónica a bifenoles policlorinados, a una dosis de 5 mg/kg, deprime la fertilidad, el crecimiento y la supervivencia; y que esos efectos se amplifican a través de una exposición multigeneracional.

Zimmerling y Sullivan (1994), determinaron la influencia de 3-propyl-1,2-dithiolane (PDT) que es un compuesto de secreción de las glándulas anales de los mustélidos sobre la dinámica poblacional de *P. maniculatus*. Encontraron que la reproducción parece no ser afectada por el PDT, por lo cual, concluyen que *P. maniculatus* no presenta una respuesta conductual a los olores de los mustélidos. Debido a esto, se considera que dichos compuestos, empleados como métodos de control biológico para *Microtus sp.*, puede tener poco impacto sobre una especie no blanco como es *P. maniculatus*.

Gregory *et al.* (1993), determinaron que la exposición a 2 g de clorpirifos en el cebo de salvado causa niveles significativos de mortalidad en adultos y jóvenes, particularmente en *P. maniculatus*.

Como puede apreciarse, a partir de las investigaciones antes señaladas se nota que la investigación sobre la reproducción del género *Peromyscus* se ha orientado fundamentalmente a la influencia de los factores ambientales sobre ésta, la regulación endocrina y ecológica del proceso y su relación con el metabolismo energético, así como la influencia de agentes químicos sobre la reproducción.

Las investigaciones en el género *Peromyscus* se han intensificado, sin embargo, no en la medida que se requiere para un grupo cuya importancia se destacará más adelante.

2.3 Especie Objeto de Estudio

2.3.1 Clasificación de *Peromyscus winkelmanni*

| | |
|------------|-------------------------------|
| ORDEN | Rodentia |
| SUBORDEN | Sciurognathi |
| FAMILIA | Muridae |
| SUBFAMILIA | Sigmodontinae |
| GENERO | <i>Peromyscus</i> |
| ESPECIE | <i>Peromyscus winkelmanni</i> |

2.3.2 Diagnósis de *Peromyscus winkelmanni*

Se le conoce como ratón de campo. Dorsalmente es moreno mezclado con negro lo que aumenta en la línea media del dorso; ventralmente es gris oscuro punteado con blanco; cola ligeramente peluda y levemente más oscura arriba que abajo. Con tres pares de glándulas mamarias: 1 par axilar y 2 inguinales (Carleton, 1977 y Hall, 1981).

Los datos morfométricos (mm) reportados para *Peromyscus winkelmanni* por Carleton (1977) y Hall (1981) son:

Longitud total, 235-265; cola vertebral, 120-140; pata trasera, 27-29; oreja, 22; craneo 33.3; rostro, 11.2; ancho de la caja craneal 14.3; ancho interorbital, 5.3; longitud de la cresta molar, 5.2; ancho del paladar, 3.2.

2.3.3 Distribución geográfica de *Peromyscus winkelmanni*

Únicamente se le ha registrado en la región de Dos Aguas y Aguililla en el estado de Michoacán, México (Carleton, 1977).

2.3.4 Hábitat

El habitat en el que se ha encontrado a *P. winkelmanni*, es una área de bosque de pino-encino con abetos dispersos, región muy húmeda, con gran cantidad de helechos y musgo que cubre las rocas así como bajo los árboles y epífita.

III. JUSTIFICACIÓN

El género *Peromyscus* ha sido objeto de diversos estudios en diferentes áreas, lo cual muestra su importancia desde el punto de vista taxonómico (Hooper, 1968; Qumsiyeh, 1994; Smith *et al.*, 1994), biomédico (Ruefenacht y Knight, 1995; Defosse *et al.*, 1995), ecológico (Garman *et al.*, 1994; Getty y Capaldi, 1994), reproductor (Galea *et al.*, 1994; Jaquot y Vessey, 1994), genético (Cowling *et al.* 1994; Crew *et al.* 1994) y en neurociencias (Hayssen *et al.*, 1994; Sucheki *et al.*, 1995).

En cuanto a los patrones reproductores de este género la información que se tiene solo abarca alrededor de un 50% de las especies. Entre los trabajos relevantes se pueden mencionar el de Layne (1968) sobre la ontogenia del género *Peromyscus*, en el que recopila la información sobre 10 subespecies pertenecientes a 8 especies de las 53 que presenta el género.

En otros trabajos sobre *Peromyscus alstoni*, se ha reportado la estación reproductora, tamaño de la camada, dimensiones testiculares, número de camadas al año, edad de madurez sexual, dimensiones de principales etapas embrionarias (Williams *et al.*, 1985), ciclo estral y conducta postparto (Olivera *et al.*, 1986). En cuanto a *P. californicus* se conoce el periodo de gestación, número de crías por camada, longevidad, estación reproductora, desarrollo y crecimiento postnatal, así como periodo de lactancia (Meritt, 1978). Sobre *P. eremicus*, existen registros sobre periodo de gestación, desarrollo de la osificación, tamaño de la camada, estación reproductora, desarrollo neonatal y ciclo estral (Veal y Caire, 1979). De *P. gossypinus*, se conoce el ciclo estral, periodo de gestación y desarrollo neonatal (Wolfe y Linzey, 1977). En el caso de *P. leucopus*, se ha reportado periodo de gestación y de lactancia, tamaño de la camada, estación reproductora, crecimiento postnatal y ciclo estral (Aelden *et al.*, 1985). Sobre *P. melanocarpus*, se tienen datos sobre la estación reproductora, tamaño de la camada y desarrollo postnatal (Rickart y Robertson, 1985). En el caso de *P. truei* se ha reportado estación reproductora, tamaño de la camada, desarrollo postnatal, periodo de lactancia y longevidad (Hoffmeister, 1981). Finalmente de *P. yucatanicus* la información que se tiene es

sobre estación reproductora, periodo de gestación, tamaño de la camada, y desarrollo postnatal (Young y Knox, 1983).

Dentro del género *Peromyscus* existen especies de las que no se tienen datos sobre sus patrones de reproducción y su desarrollo ontogenético. Este es el caso de *Peromyscus winkelmanni*, roedor endémico de México (Hall, 1981), especie objeto del presente estudio. La información disponible de *P. winkelmanni* es escasa.

Carleton (1977), describe y señala por vez primera, las características de ejemplares colectados en la localidad de Dos Aguas, Michoacán, detallando características anatómicas, craneales, de pelaje y del glande del pene, así como diagnosis, rango geográfico y hábitat. Alvarez *et al.* (1987) realizaron una descripción de ejemplares colectados, también en la zona de Dos Aguas, Michoacán, y compararon sus datos con los de Carleton (1977), agregando algunos aspectos sobre el estado del aparato reproductor de los ejemplares colectados. Bradley y Schmidly (1987) compararon la estructura peneana de varias especies del grupo *boylii*, entre ellos, los del subgrupo *aztecus* en el que incluyen a *P. winkelmanni*. Smith *et al.* (1989) realizaron un estudio comparativo de cariotipos de representantes del grupo *boylii*. Smith, en 1990, discutió el posible origen polifilético de los grupos *boylii* y *aztecus* del género *Peromyscus*, incluyendo en este último grupo a *P. winkelmanni*. Sullivan y Kilpatrick (1991) hicieron un estudio bioquímico de algunas proteínas séricas y tisulares de ejemplares del grupo *boylii*, entre ellos *P. winkelmanni*.

Existen experiencias exitosas en el manejo en condiciones de cautiverio de varias especies del género *Peromyscus* entre las cuales podemos enlistar a: *P. alstoni*, (Olivera *et al.*, 1986) *P. aztecus*, *P. californicus*, *P. eremicus*, *P. leucopus*, *P. maniculatus*, *P. polionotus* (*Peromyscus* Genetic Stock Center, 2007), *P. floridanus*, *P. truei*, *P. melanocarpus*, *P. mexicanus*, y *P. yucatanicus* (Millar, 1989). Aunado a esto, en algunas colectas de otros mamíferos en la zona de Dos Aguas, se observaron en ejemplares de *P. winkelmanni* con características de comportamiento (docilidad y manejabilidad) que hacen suponer que se puede mantener en condiciones de cautiverio. Por lo tanto, resultaría un modelo experimental adecuado

para estudios en condiciones controladas. De este modo, sería posible abordar el estudio de aspectos que permitan conocer más acerca de sus patrones reproductores pues se podrían aportar datos sobre la influencia de algunos factores medio ambientales en la reproducción y desarrollo de la especie.

Con base en lo anterior, el presente estudio surge del intento para formar una colonia de *Peromyscus winkelmanni* y con ello mantener un banco de información biológico. El cual permitiría abordar interrogantes en el ámbito de la evolución, la ecología, la conducta, la inmunología, la toxicología y, por supuesto, la reproducción y el desarrollo. En suma constituiría un modelo animal de procedencia silvestre en peligro de extinción (Baillie, 1996) y diferente a los modelos animales en condiciones de cautiverio: ratón casero (*Mus musculus*), rata (*Rattus norvegicus*), cuyo (*Cavia porcellus*) y/o hamster (*Mesocricetus auratus*).

Con la intención de formar esta colonia se colectaron 14 ejemplares de *Peromyscus winkelmanni*, algunos de los cuales lograron sobrevivir hasta dos años con 1 mes y 5 días. Sin embargo, no se reprodujeron en condiciones de cautiverio tipo, que han sido adecuadas para otras especies, como las ya mencionadas. Por lo cual, en esta tesis se presentan los resultados de ejemplares capturados y sacrificados después de ser colectados, así como de el estudio de la citología vaginal y conducta estudiada con los ejemplares conservados en condiciones de cautiverio.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Describir las características morfológicas generales de los aparatos reproductores masculino y femenino, que permitan establecer los patrones reproductores de *Peromyscus winkelmanni*.

4.2 Objetivos particulares.

1. Describir la anatomía macroscópica de los aparatos reproductores femenino y masculino.
2. Definir la organización histológica general de los aparatos reproductores masculino y femenino.
3. Identificar el ciclo estral a partir de la citología vaginal.
4. Describir algunas posturas y movimientos propios de la especie.
5. Aportar información sobre la biología reproductora de este roedor.

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

Los ejemplares de *Peromyscus winkelmanni* empleados para realizar este trabajo provienen de seis colectas, realizadas durante los meses de: julio de 1994, febrero 1995, febrero de 1997, junio de 1997, diciembre de 1997 y febrero de 1998.

5.1 Trabajo de Campo

Las colectas se realizaron en la localidad llamada "Chiqueritos", situada aproximadamente a 5 Km al Este de Dos Aguas (GPS 18° 48.848' N and 102° 55.847' W; 1692 msnm). Dos Aguas, es una villa que se encuentra a una distancia aproximadamente igual entre los poblados de Aguililla y Coalcomán, en el estado de Michoacán (fig. 2).

Para la captura de los ejemplares se utilizaron 200 trampas de aluminio tipo "Sherman" (230x80x80 mm), las cuales se colocaron entre las 16:00 y 18:30 horas, el cebo usado fue avena con vainilla; y se recogieron al día siguiente entre las 8:00 y 10:00 horas.

5.2 Identificación taxonómica

La identificación taxonómica de los ejemplares seleccionados se llevó a cabo a partir de las características del pelaje descritas por Carleton (1977) y Hall (1981) (vease diagnóstico) para *Peromyscus winkelmanni*.

En el diagrama de flujo de la figura 3 se describen las etapas del trabajo de campo y de toma de datos preparatorios para el estudio anatómico.

Se comprobó la identificación taxonómica de los ejemplares colectados a partir de los datos morfométricos corporales y craneales (Hall, 1981), a fin de verificar que corresponden a los reportados por Carleton (1977) para *P. winkelmanni* (Anexo A).

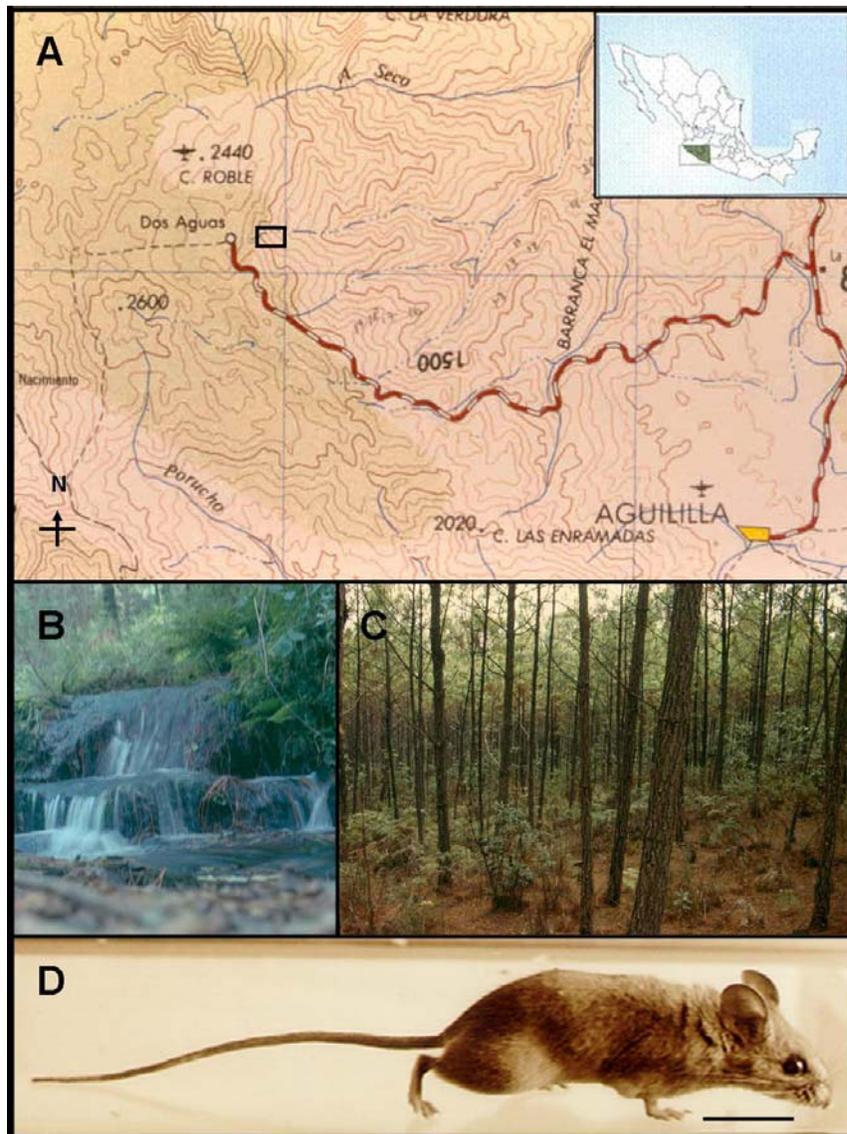


Fig. 2. Habitat en el que se ha encontrado a *Peromyscus winkelmanni*. **A.** Mapa que muestra la ubicación de la localidad de captura: “Chiqueritos” (zona enmarcada), que se encuentra aproximadamente a 5 Km al Este de Dos aguas (GPS $18^{\circ} 48.848' N$ and $102^{\circ} 55.847' W$; 1692 msnm). Recuadro azul, arriba a la derecha, muestra ubicación y orientación de localidad en la República mexicana. **B.** Áreas muy húmedas con gran cantidad de helechos. **C.** Área de bosque de pino-encino con abetos dispersos, con musgo que cubre las rocas así como bajo los árboles y epífito. **D.** Ejemplar macho adulto de *Peromyscus winkelmanni* (barra 30 mm).

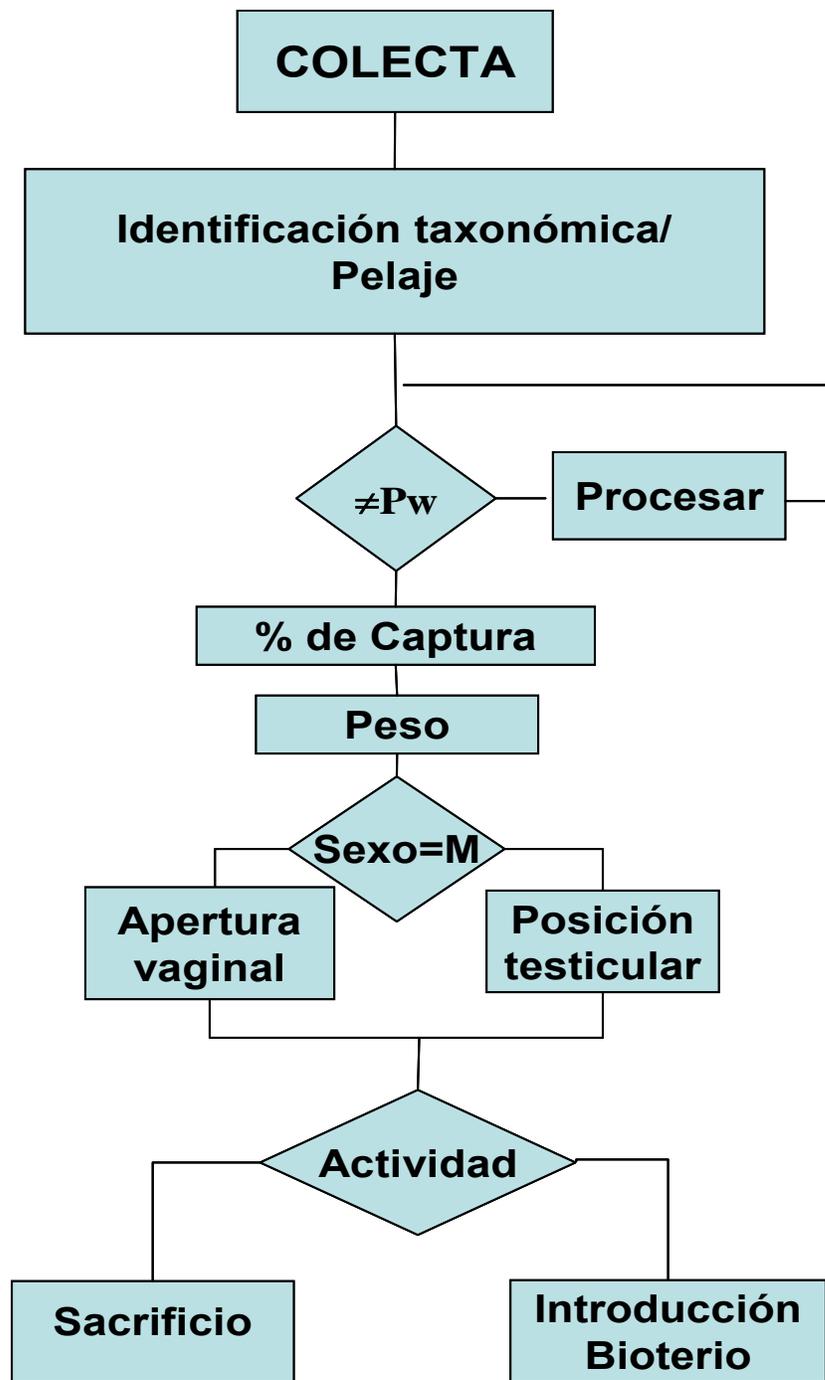


Fig. 3. Diagrama de la etapas principales de la metodología desarrollada en el estudio de algunos aspectos de la biología de la reproducción de *Peromyscus winkelmanni*.

5.3 Estudio anatómico

Después de registrar porcentajes de captura y peso corporal se sacrificó (con vapores de eter etílico) a 13 ejemplares machos y 17 hembras. Previa verificación de posición testicular y apertura vaginal respectivamente. Los aparatos reproductores fueron disecados con ayuda de un microscopio estereoscópico (Olympus). Del aparato reproductor masculino: los testículos se pesaron y midieron sus diámetros (craneo-caudal, dorso-ventral y medio-lateral), así como dimensiones de conducto deferente y glándulas accesorias (seminales, ampular, próstata ventral, próstata anterior, próstata dorsal, bulbo uretral y prepucial). Del aparato reproductor femenino se pesaron ovarios, y se midió longitud de cuernos uterinos y vagina. A partir del peso corporal y gonadal se calculó el índice gonadosomático (Kuhn-Velten *et al.*, 1987). Todas las medidas se tomaron con ayuda de un vernier marca Vis y el peso con una balanza Mettler p-2000. Los valores de peso corporal, peso gonadal e índice gonadosomático fueron analizados estadísticamente por medio de una ANOVA de una vía y la prueba de Tukey (Zar, 1999).

Las muestras de los aparatos reproductores de 9 ejemplares machos y 15 hembras fueron fijadas por inmersión en formalina neutra al 10% (Prophet *et al.*, 1992) 4 machos y 7 hembras, en tanto que en Bouin Dubosq (Humason, 1979) 5 machos y 8 hembras. Posteriormente, los órganos fueron procesados para su estudio con microscopía fotónica de campo claro (ML).

Los aparatos reproductores de cuatro ejemplares machos y dos hembras se fijaron por riego sanguíneo empleando para esto paraformaldehído al 4% en solución amortiguada de fosfatos (0.16 M a pH de 7.2) y, de esta manera, prepararlos para el procesamiento para microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET).

El diagrama de flujo representado en la figura 4 muestra las diferentes fases del estudio anatómico.

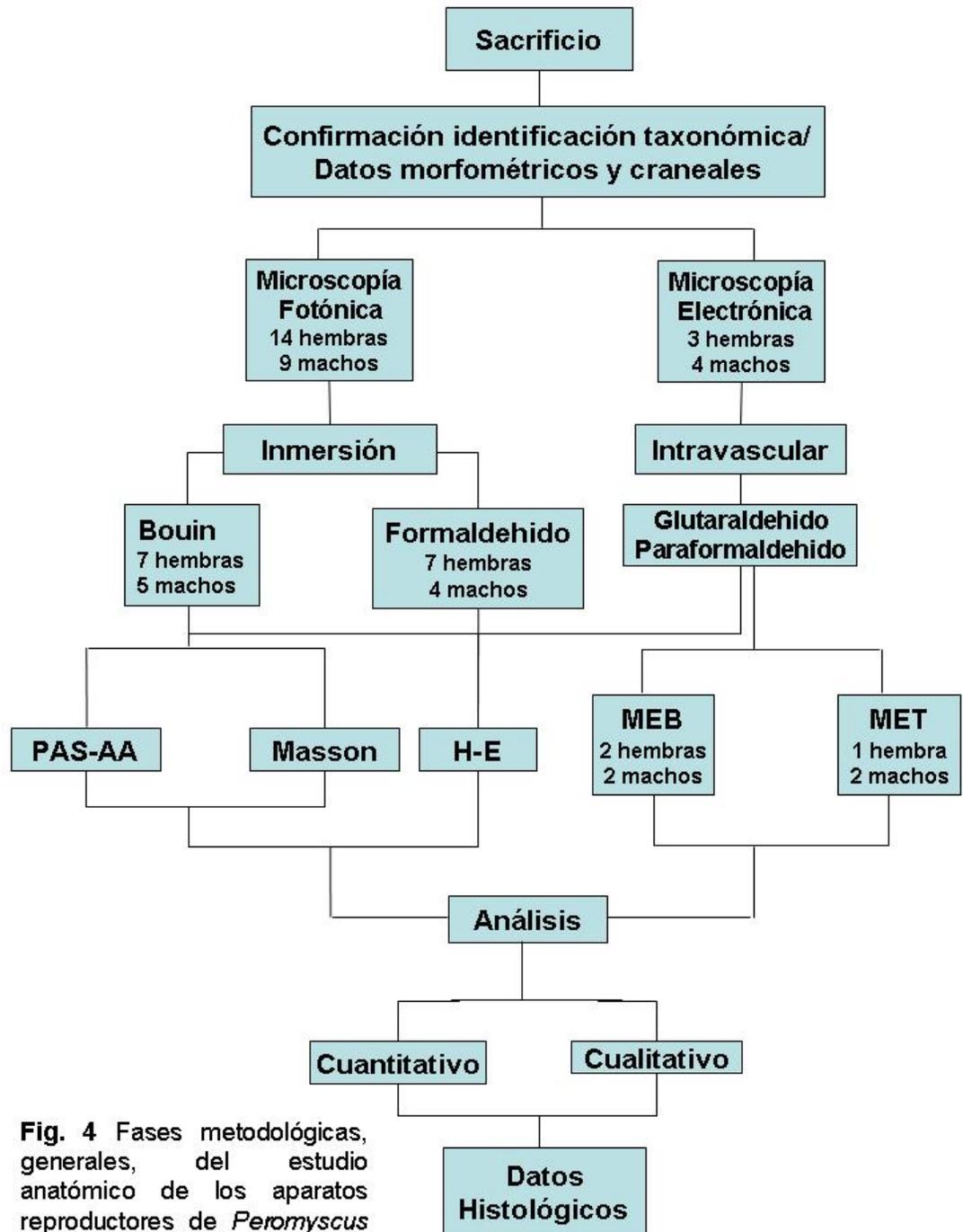


Fig. 4 Fases metodológicas, generales, del estudio anatómico de los aparatos reproductores de *Peromyscus winkelmanni*.

5.4 Microscopía de Luz

El testículo, epidídimo, conducto deferente y glándulas accesorias masculinas, ovario, oviducto, utero y vagina fijados en formalina (F) y Bouin (B) se lavaron en etanol de 70° GL. Posteriormente se deshidrataron con etanol gradual de 80°, 96° y anhidro. La aclaración se llevó a cabo con etanol anhidro y xileno (1:1) y dos pasos con xileno puro. Los órganos se incluyeron en paraplast con DMSO (Oxford labware, St. Louis, Mo 63103 USA). En cada caso se obtuvieron cortes seriados de 5 micrómetros de espesor en el plano sagital (F: dos machos y tres hembras; B: cuatro machos y cuatro hembras), y transversales (F: dos machos y tres hembras; B: tres machos y cuatro hembras). Aleatoriamente, algunos cortes fueron teñidos con las técnicas de hematoxilina-eosina, tricrómica de Masson, PAS (Humason, 1979) y azul de alciano (pH 2.5 y 1) (Presnell y Schreiber, 1997) (ver Anexo B, para descripción detallada de las técnicas histológica y de tinción aplicadas). A partir de este material se describió la organización tisular básica de los órganos de los aparatos reproductores de los machos y hembras con la ayuda del ML Axioskope II (Carl Zeiss). En el caso de los machos se calculó el índice espermatogénico (Grocock y Clarke, 1973) para determinar la actividad sexual de los ejemplares colectados (figura 4.1), en las hembras se determinaron tipos de folículos.

5.5 Citomorfometría

Para obtener las dimensiones tisulares y celulares se empleó el programa de análisis de Imágenes (KS 300 Imaging system, Carl Zeiss). En el caso del epidídimo se obtuvieron las siguientes medidas: altura del epitelio (sin estereocilios), longitud de los estereocilios, area luminal, diámetro mayor, factor de forma, e índice espermático ($[\text{número de espermatozoides/area luminal}] \cdot 100$) de 50 conductos de cada una de las diferentes regiones del epidídimo de ejemplares maduros e inmaduros. Para asegurar que solo se contabilizaron secciones transversales de los conductos epididimarios, fueron considerados únicamente aquellos con factor de forma mayor a 0.7 (el círculo perfecto tiene un factor de forma de 1). Los datos

registrados fueron analizados estadísticamente con las pruebas ANOVA y Tukey (Zar, 1999). Las fotomicrografías se obtuvieron con un microscopio Axiophot (Carl Zeiss).

5.6 Microscopía Electrónica de Barrido.

El testículo, epidídimo, ovario, oviducto y cuerno uterino derechos destinados a ser analizados con microscopía electrónica de barrido, después de la fijación por riego sanguíneo con paraformaldehído, se introdujeron en fijador de glutaraldehído 2.5% con paraformaldehído al 4% en solución amortiguada de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2) durante dos horas en refrigeración. Posteriormente, se lavaron, postfijaron, deshidrataron y recubrieron con la técnica convencional, con una ionizadora SCD 050 (Bozzola y Russell, 1992). Las muestras fueron analizadas en microscopios electrónicos de barrido Jeol y DSM 940 A Zeiss, a 10 y 5 Kv. Las imágenes fueron digitalizadas en formato TIFF y convertidas posteriormente a formato BMP. Se tomaron fotografías del material procesado en placas Ilford. La impresión se realizó con película Kodak F3 (Ver Anexo C2 para descripción detallada de las técnicas empleadas) (figura 4.2).

5.7 Microscopía Electrónica de Transmisión

El epidídimo derecho usado para ser analizado con el microscopio electrónico de transmisión se lavó, postfijó, deshidrató, aclaró e incluyó de acuerdo a la técnica convencional (Vázquez Nin y Echeverría, 2000) (Ver Anexo C3 para descripción detallada de la técnica empleada). Los cortes semifinos (de 0.2 μm) se tiñeron con azul de toluidina para su posterior análisis con microscopía fotónica de campo claro. En tanto que los cortes ultrafinos (de 0.060 μm) se contrastaron con citrato de plomo y acetato de uranilo. Se analizaron las secciones finas de tejido con el microscopio electrónico de transmisión EM-10, Zeiss, a 80 Kv. De este material se obtuvieron placas fotográficas que se imprimieron en papel Kodak F3 (figura 4.2).

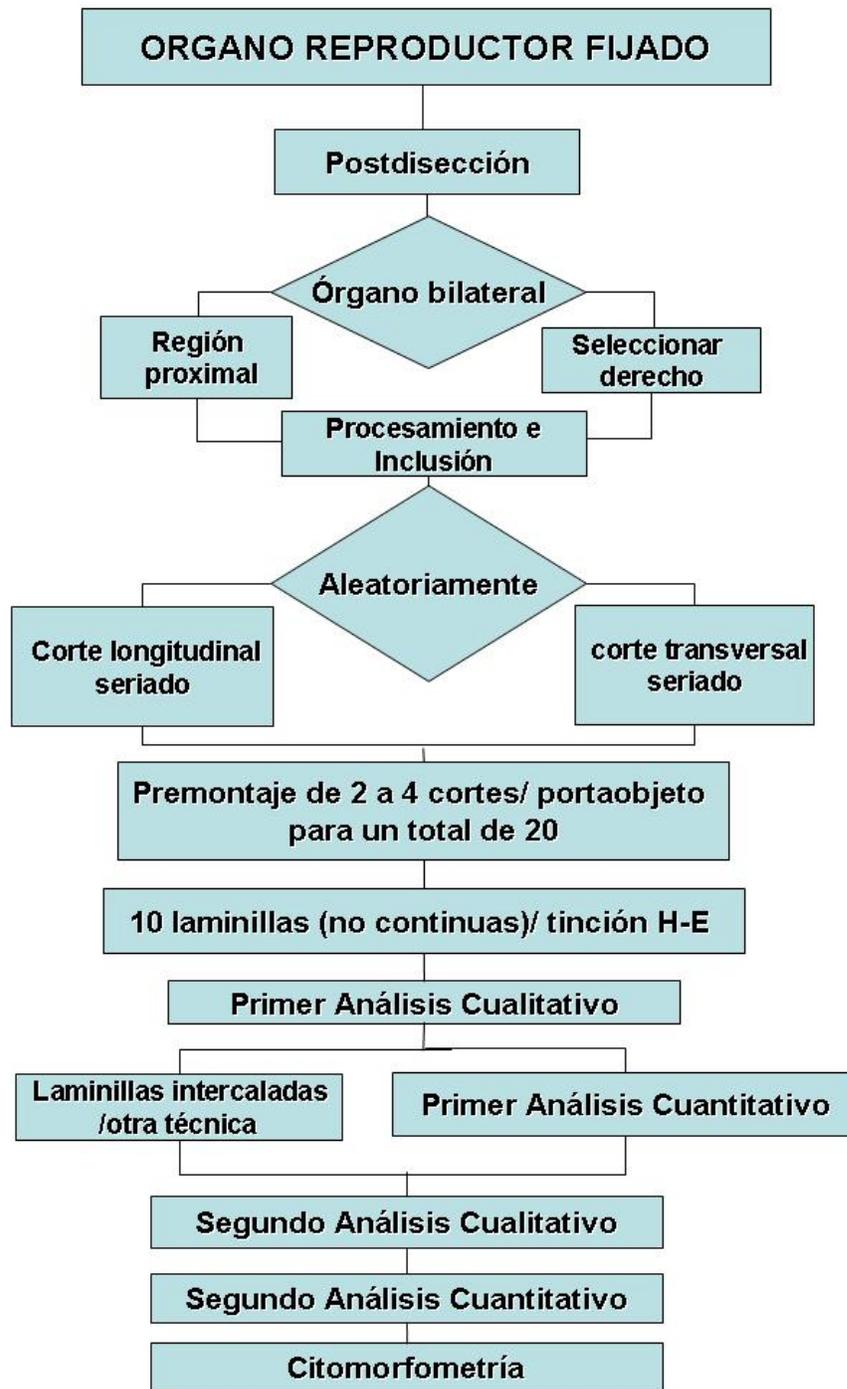


Figura 4.1. Protocolo de Trabajo para la Microscopía de Luz.

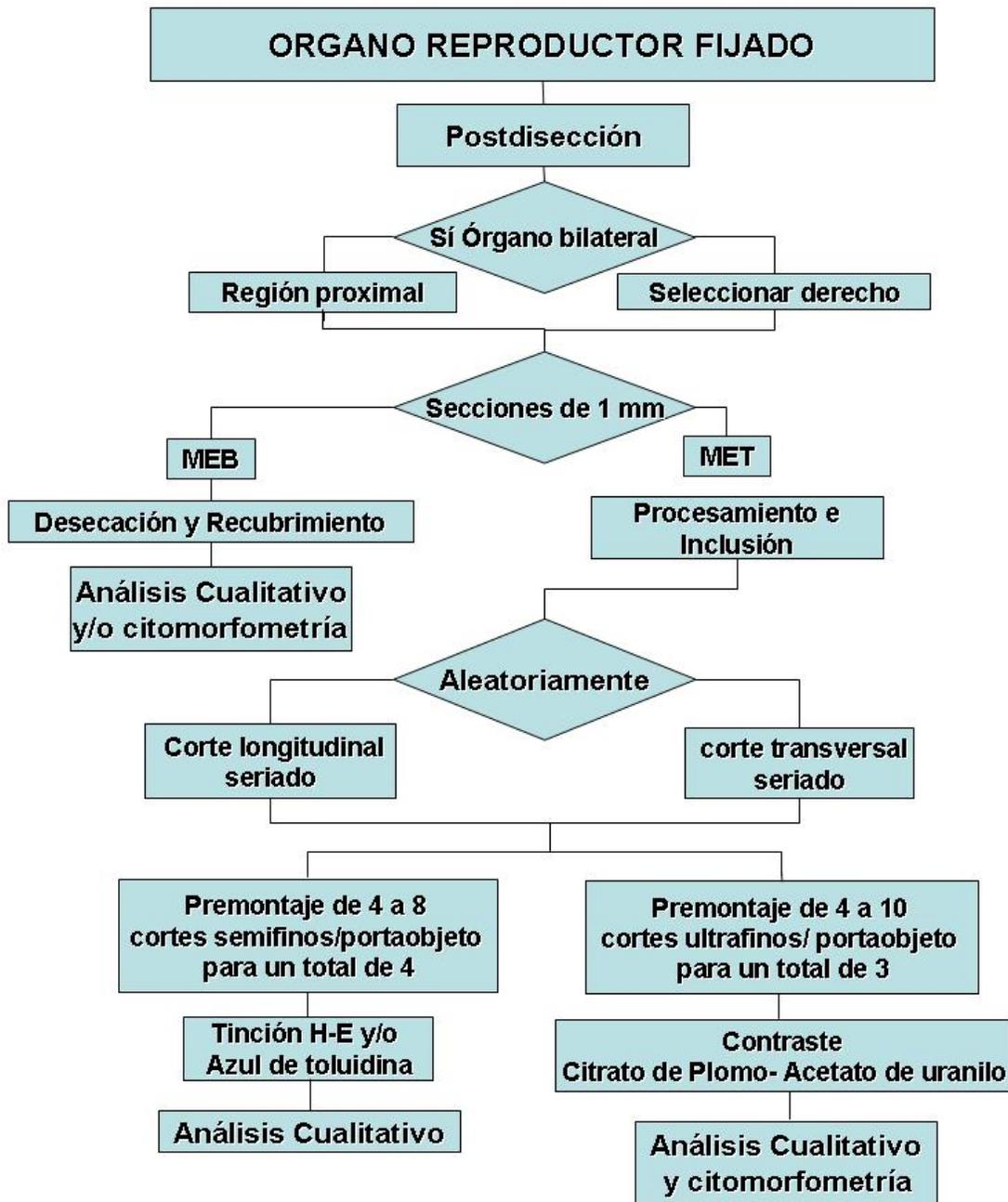


Figura 4.2. Protocolo de Trabajo para la Microscopía Electrónica.

5.8 Introducción de ejemplares al Bioterio

Los ejemplares colectados fueron transportados a las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa en la Cd. de México D.F. (Vía Nueva Italia, Uruapan, Pátzcuaro, Morelia, Toluca) en dos etapas, ya que se pernoctó en Nueva Italia, Mich. el 4 de febrero, para salir en la mañana y llegar a México, D.F. el día 5 a las 23:00 horas (en el trayecto murieron 4 especímenes). Para desparasitarlos se empleó un desparasitante de la familia de las avermectinas (Butox: a una concentración de 1.1 ml por kg de peso). Antes de ingresarlos a la sala de bioterio asignada, se mantuvieron en la sala de observación.

Los ejemplares colectados una vez sexados se separaron en jaulas de acrílico transparente.

A las hembras se les revisó:

- Desarrollo mamario. Descrito por la observación de las glándulas mamarias, clasificándolas por su tamaño.
- Vagina. Se identificó si se encontraba abierta o cerrada.
- Sínfisis púbica. Se determinó su abertura introduciendo ligeramente los dedos índice y pulgar en la región sacra, tratando de determinar la separación de los huesos púbicos.
- Se determinó por palpación que no estuvieran preñadas.

A los machos se les determinó la posición de los testículos.

- Abdominal: percibidos por palpación.
- Escrotal: ocupando el saco cremástico y por tanto se percibieron externamente.

Tanto en machos como en hembras se determinó si se encontraban en proceso de muda. De ser así se determinó el tipo y ubicación.

5.8.1 Periodo de adaptación

El periodo de adaptación de *Peromyscus winkelmani* tanto de hembras como machos se llevó a cabo en jaulas de acrílico transparente (39x24x24cm) con cama

de aserrín que se cambió cada 72 horas. Se colocó un ejemplar por caja, proporcionándoles alimento comercial para roedores (nutricubos chow de Purina) y agua *ad libitum* en bebederos de succión. El periodo luz oscuridad fue de 12:12 hrs. a una temperatura de alrededor de $18^{\circ} \text{C} \pm 2$ en un cubículo de 5 x 4 metros. Transcurridas tres semanas todos los individuos fueron pesados y medidos.

5.9 Citología Vaginal y Ciclo estral.

Para estimar la duración del ciclo estral a 3 hembras se les tomó frotis vaginal (con pipeta estéril y solución fisiológica de cloruro de sodio al 0.9%) cada 12 horas (a las 8:00 y 16:00 horas) durante un periodo de 31 días. Los frotis se tiñeron con la técnica de Papanicolau (Lynch *et al.*, 1977) (Ver Anexo B.3.6 para la descripción detallada de la técnica empleada), se observaron al microscopio de luz de campo claro para identificar y cuantificar la citología vaginal exfoliativa, según Long y Evans (1922) y Zarrow (1964). La duración del ciclo vaginal se estableció una vez que los ciclos fueron repetitivos y las proporciones celulares no variaron.

5.10 Conducta

De manera condensada se muestran las diferentes fases del trabajo de introducción de los ejemplares al bioterio, registro de conducta y citología vaginal en el diagrama de la figura 5.

Se trabajó con 14 ejemplares que se mantuvieron durante 30 días en las siguientes condiciones de cautiverio: temperatura $21^{\circ}\text{C} \pm 2$; humedad relativa $36\% \pm 2$; ciclo de luz-oscuridad de 12:12; agua *ad libitum* y nutricubos chow de Purina.

Se realizaron 12 observaciones por día (una cada hora) durante la fase de oscuridad, en un periodo de 30 días, para registrar las posturas y movimientos de *P. winkelmanni* durante su periodo de actividad. Los datos fueron registrados en una matriz en la cual se considera número de ejemplar, día y hora por día y estado del ejemplar (A=Actividad y D=descanso) (matriz para captura de datos en el Anexo D).

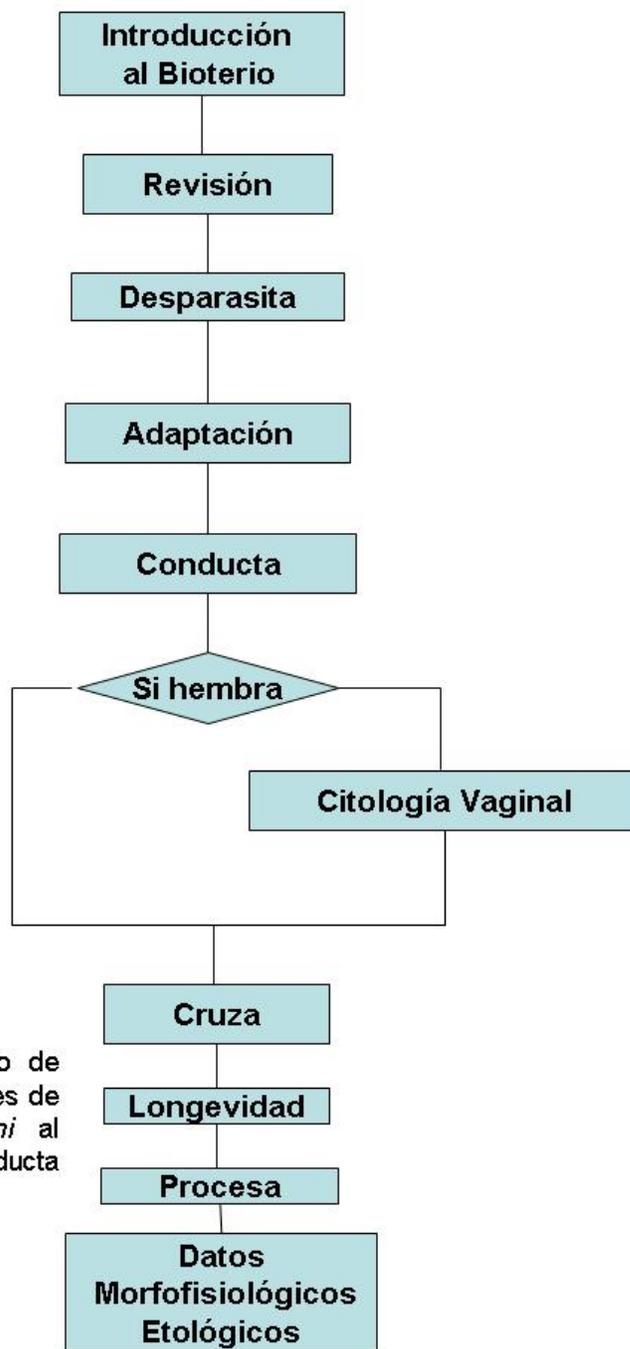


Fig. 5 Fases de trabajo de introducción de ejemplares de *Peromyscus winkelmanni* al bioterio, registro de conducta y citología vaginal.

VI. RESULTADOS.

6.1 Trabajo de Campo

En general el porcentaje de captura fue bajo, ya que en ninguna de las colectas rebasó el 8.5%. Los años que abarcó este estudio muestran un mayor porcentaje el mes de febrero, en tanto que los porcentajes menores se presentaron en junio, julio y diciembre (Tabla 1).

Tabla 1. Número de ejemplares colectados y porcentaje de captura.

| Fecha de Colecta | Julio 1994 | Febrero 1995 | Febrero 1997 | Junio 1997 | Diciembre 1997 | Febrero 1998 |
|------------------|------------|--------------|--------------|------------|----------------|--------------|
| Machos | 0 | 4 | 8 | 2 | 0 | 7 |
| Hembras | 2 | 5 | 9 | 2 | 1 | 4 |
| % de captura | 1 | 4.5 | 8.5 | 2 | 0.5 | 5.5 |

Los géneros y especies colectados junto con *P. winkelmanni* fueron: *Peromyscus truei*, *Peromyscus spicilegus*, *Peromyscus sp.*, *Reitrodonthomys fulvescens* y *Sigmodon sp.*

Los registros de temperatura, precipitación pluvial e insolación consultados (estación meteorológica de Coalcomán de Vázquez Pallares) mostraron: 1) enero y febrero fueron los meses de menor temperatura (hasta 4° C), en tanto que mayo y junio los de mayor temperatura (hasta 26° C). 2) Los meses de menor precipitación fueron diciembre, enero y febrero, en tanto que los de mayor precipitación fueron junio, julio y agosto. 3) Enero es el mes de menor insolación, mientras que mayo resulta el de mayor insolación. La variación mensual promedio para el periodo que abarcó el presente estudio se presenta en la figura 6. Al considerar estos datos en conjunto se observa que la insolación presenta valores de menor variación a lo largo del año, la temperatura una tendencia a una fuerte disminución en los meses de enero y febrero, en tanto que la precipitación pluvial aumenta de manera drástica en los meses de junio y agosto, con una ligera disminución en julio.

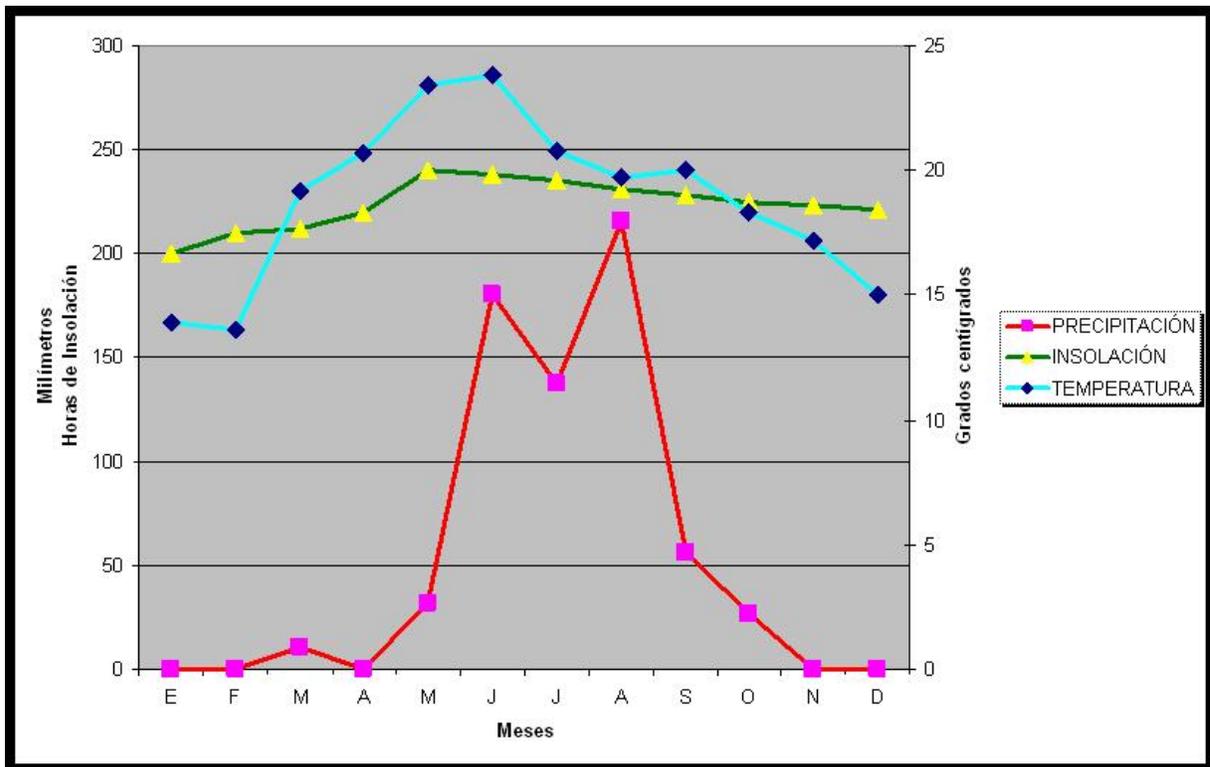


Fig. 6. Variación promedio mensual de temperatura, precipitación pluvial e insolación (periodo 1994-2000, INEGI y Comisión Nacional del agua, 2005).

6.2 Aparato Reproductor Masculino.

6.2.1 Descripción de la anatomía macroscópica

En la tabla 2 se registraron las fechas de colecta, el peso corporal, la posición, peso y dimensiones testiculares, así como los índices gonadosomático y de madurez (IM) (de acuerdo a Grocock y Clarke, 1973) así como la presencia de espermatozoides en los conductos epididimarios (valorados éstos dos datos a partir de secciones finas de los órganos, procesados y teñidos con la técnica de tinción H-E) (Figura 7). En la última columna se sugiere la edad de los ejemplares (juvenil y adulto) al comparar estadísticamente los pesos corporales, peso gonodal e índice gonadosomático y encontrar diferencias significativas entre las dos edades (prueba de Tukey, $P < 0.01$) (Anexo E).

Tabla 2. Fecha de colecta y datos morfofisiológicos del aparato reproductor masculino de *Peromyscus winkelmani*.

| Fecha de Colecta. | Peso Corporal (g) | Posición Testicular | Peso gonadal | | Promedio de ejes testiculares ¹ (dimensiones, mm) | | | IM ² | PE ³ | Edad ⁴ |
|-------------------|-------------------|---------------------|-----------------|---------|---|-------------|------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | | | Promedio (g) | IGS (%) | C-C | D-V | M-L | | | |
| Feb/95 | 49.9* | Inguinal | 0.2 ± 0* | 0.40* | 7.8 ± 0.5 | 4.1 ± 0.1 | 3.6 ± 0.1 | 3 | Si | Adulto |
| Feb/95 | 48.5* | Inguinal | 0.235 ± 0.007* | 0.47* | 8.4 ± 0.3 | 5.2 ± 0.5 | 4.3 ± 0 | 3 | Si | Adulto |
| Feb/95 | 40.5* | Inguinal | 0.16 ± 0.02* | 0.39* | 8.4 ± 0.1 | 4.8 ± 0.4 | 3.8 ± 0.1 | 3 | Si | Adulto |
| Feb/95 | 55.7* | Inguinal | 0.25 ± 0.007* | 0.44* | 9.1 ± 0.4 | 4.7 ± 0.4 | 4.2 ± 0.2 | 4 | Si | Adulto |
| Feb/97 | 25.4 | Abdominal | 0.01 ± 0.0007 | 0.039 | 3.25 ± 0.07 | 2.1 ± 0 | 2 ± 0 | 1 | No | Juvenil |
| Feb/97 | 39.3* | Inguinal | 0.25 ± 0.007* | 0.64* | 6.9 ± 0.1 | 3.9 ± 0.1 | 3 ± 0.2 | 4 | Si | Adulto |
| Feb/97 | 41.4* | Inguinal | 0.22 ± 0.01* | 0.53* | 6.8 ± 0 | 4.41 ± 0.07 | 2.9 ± 0.14 | 2 | No | Adulto |
| Jun/97 | 51.0* | Inguinal | 0.267 ± 0.004* | 0.523* | 8.9 ± 0.1 | 4.8 ± 0.1 | 3.8 ± 0.1 | 4 | Si | Adulto |
| Jun/97 | 45.0* | Inguinal | 0.242 ± 0.003* | 0.538* | 8.7 ± 0.1 | 4.9 ± 0.1 | 3.9 ± 0 | 5 | Si | Adulto |
| Feb/98 | 38.1 | Abdominal | 0.0136 ± 0.0003 | 0.035 | 3.2 ± 0.14 | 2.2 ± 0.28 | 1.8 ± 0.24 | 1 | No | Juvenil |
| Feb/98 | 37.3 | Abdominal | 0.0220 ± 0.0003 | 0.058 | 4.1 ± 0.21 | 2.2 ± 0.14 | 2.0 ± 0.15 | 0 | No | Juvenil |
| Feb/98 | 29.4 | Abdominal | 0.0205 ± 0.0007 | 0.069 | 4.05 ± 0.21 | 2.05 ± 0.07 | 1.9 ± 0.08 | 0 | No | Juvenil |
| Feb/98 | 35.5 | Abdominal | 0.0252 ± 0.0001 | 0.070 | 5.0 ± 0.28 | 2.4 ± 0.14 | 2.1 ± 0.19 | 0 | No | Juvenil |

1 Ejes: X craneo-caudal, Y dorso-ventral, Z medio-lateral

2 Índice de madurez según Grocock y Clarke (1973).

3 Presencia de espermatozoides en los conductos de la *cauda* epididimaria.

4 Considerada a partir de peso corporal, peso gonadal e índice gonadosomático (con asterisco indican una diferencia significativa: Prueba de Tukey, P < 0.05).

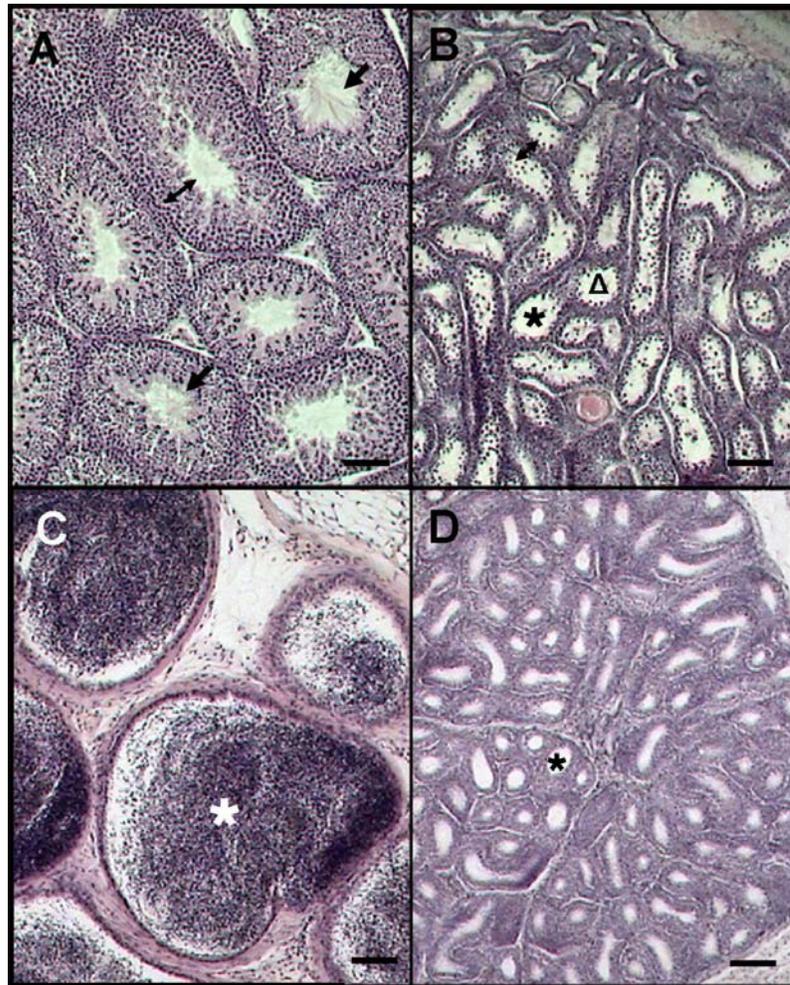


Fig. 7. Fotomicrografías del testículo y *cauda* del epidídimo *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital en las que se muestran túbulos seminíferos y epididimarios en corte transversal (H-E, Barra=400 μ m). **A.** Testículo de ejemplar adulto que corresponde al índice de madurez de 5¹, se aprecia epitelio seminífero (\leftrightarrow) de espesor homogéneo y con más de cuatro estratos celulares; numerosos túbulos presentan abundantes espermatozoides (\rightarrow). **B.** Testículo de ejemplar juvenil que corresponde al índice de madurez de 0¹, túbulos con menor diámetro (Δ) que en los ejemplares adultos y epitelio seminífero monoestratificado y sin espermatozoides en la región luminal (\star). **C.** Epidídimo de ejemplar adulto, se aprecia la luz de los túbulos (\star) con alto índice espermático. **D.** Epidídimo de ejemplar juvenil, diámetro menor a los ejemplares adultos y sin espermatozoides en la luz (\star). 1 Según Grocock y Clarke, 1973.

En la tabla se aprecia que los ejemplares machos colectados en febrero de 1995 tuvieron un peso corporal entre 40.5 a 55.7g; sus testículos estaban en posición inguinal. El peso gonadal promedio varió entre 0.16 ± 0.02 a 0.25 ± 0.007 g; el índice gonadosomático fue de 0.39 a 0.47; índice de madurez de 3 y 4. En todos los epidídimos se encontraron espermatozoides. Todos los ejemplares se consideraron de edad adulta

El peso corporal de los ejemplares machos colectados en febrero de 1997 fue de 25.4 a 41.4 g, con testículos en posición ya sea abdominal o inguinal. El peso gonadal promedio fue 0.01 ± 0.0007 a 0.25 ± 0.0007 g y el índice gonadosomático 0.039 a 0.64; índice de madurez de 1 a 4. La presencia de espermatozoides en el epidídimo sólo se evidenció en el ejemplar de índice 4. Un ejemplar se consideró en de edad juvenil y dos en edad adulta.

Los ejemplares machos colectados en junio de 1997 tuvieron peso corporal entre 45.0 a 51.0g, con testículos en posición inguinal. El peso gonadal promedio varió de 0.242 ± 0.003 a 0.267 ± 0.004 g y el índice gonadosomático fue de 0.523 a 0.538; índice de madurez 4 y 5. Presencia de espermatozoides en los dos ejemplares. La edad de los dos ejemplares se consideró adulta.

Los ejemplares machos colectados en febrero de 1998 tuvieron un peso corporal entre 29.4 a 38.1 g, con testículos únicamente en posición abdominal. El peso gonadal promedio varió de 0.0136 ± 0.0003 a 0.0252 ± 0.0001 g; el índice gonadosomático fue de 0.035 a 0.07; índice de madurez de 0 a 1, sin espermatozoides en el epidídimo en todos los ejemplares. Todos los ejemplares se consideraron juveniles.

Con base en el análisis estadístico (anexo E) correlacionado con el índice de madurez y presencia de espermatozoides en el epidídimo, los ejemplares colectados se agruparon en adultos activos, adultos inactivos y juveniles. Por tanto, la descripción anatómica macroscópica y tisular de los diferentes órganos del aparato reproductor se elaboró a partir de esta categorización.

En la figura 8 se muestra el aparato reproductor masculino, en conjunto, de un ejemplar de *P. winkelmanni* con índice de madurez 5, es decir adulto. Los órganos

identificados fueron, además de los testículos, el epidídimo, el conducto deferente, la glándula ampular, la glándula seminal, la próstata anterior, la próstata ventral y la próstata lateral, las glándulas bulbo uretrales y las prepuciales. En las secciones siguientes describimos la anatomía macroscópica de los órganos antes mencionados.

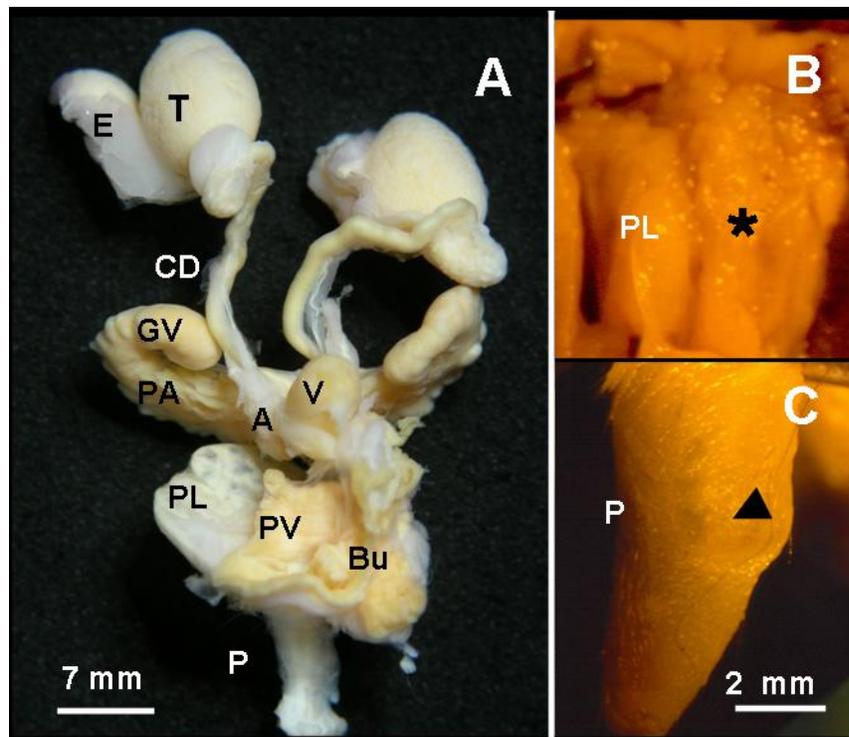


Fig. 8 **A.** Aparato reproductor masculino de *Peromyscus winkelmanni* en vista ventrolateral: (T) Testículo, (E) epidídimo, (CD) Conducto deferente, (GV) Glándula vesicular, (A) Glándula ampular, (PA) Próstata anterior (PV) Próstata ventral, (V) Vejiga, (BU) Glándulas bulbo uretrales y (P) Pene. **B.** Complejo prostático en el que la próstata dorsal se encuentra encubierta por las regiones ventral (*) y laterales (PL) (la vejiga se retiró). **C.** Pene en el que se muestra el abultamiento de las glándulas prepuciales (cabeza de flecha).

6.2.1.1 Testículos.

Los testículos de *P. winkelmanni* son cuerpos ovales de color blanquecino, se encuentran en la bolsa cremástica, la cual se localiza por encima del ano, a cada lado de la uretra. El saco cremástico permanece en contacto con la cavidad del

cuerpo, y los testículos pueden retraerse por la vía de los canales inguinales. Los testículos se encuentran unidos a la región dorsal por un mesenterio, sobre el cual corren vasos sanguíneos. Del mesenterio se desprende el peritoneo visceral que es continuo con la cápsula que envuelve tanto al testículo como al epidídimo.

El peso gonadal de los ejemplares adultos se encontró entre 0.16 ± 0.02 a 0.267 ± 0.004 g. y las dimensiones que presentaron los ejes fueron: craneo caudal de 6.8 ± 0 a 9.1 ± 0.4 mm; dorso ventral de 3.9 ± 0.1 a 5.2 ± 0.5 mm y medio lateral de 3 ± 0.2 a 4.3 ± 0 mm.

En cuanto a la circulación se observó una arteria que surge directamente de la aorta posterior y que, al llegar a la región cefálica del testículo, se ramifica en dos arterias, una hacia la región ventral y otra hacia la región dorsal. Las tres son claramente visibles superficialmente. La arteria dorsal se ramifica en forma profusa. Una de las ramas de esta arteria continúa hasta el *caput* del epidídimo.

6.2.1.2 Epidídimos.

En los epidídimos disecados se distinguieron claramente tres regiones, que de acuerdo a la Nomenclatura Anatómica Veterinaria (I.C.V.G.A.N., 2005) corresponden a: “*caput*” (cabeza), la cual estaba unida al testículo por los conductos eferentes que se incorporaban al segmento inicial; un “*corpus*” (cuerpo) delgado y alargado; y una “*cauda*” (cola) abultada y de aspecto rugoso. El “*caput*” fue la región más prominente. Un delgado saco fibroso rodeaba a la “*cauda*” y a la porción terminal del “*corpus*” epididimario.

El *caput* se encontró adosado a la región craneal del testículo, en tanto que un mesenterio delgado unía al *corpus* y *cauda* epididimarios a lo largo de la superficie posterior del testículo. El *caput* del epidídimo se encontró asociado a abundante grasa blanca.

Se encontró que los conductos eferentes surgen de la *rete testis*, localizada en la región media posterior, cerca de la zona ecuatorial del testículo. Los conductos eferentes presentaron un trayecto ligeramente sinuoso hacia el *caput* epididimario.

En relación a la circulación, se observó una arteria que surge directamente de

la aorta posterior. Una vez que ésta alcanzó la región craneal del testículo, se ramificó en dos arterias: una con trayectoria hacia la región dorsal y la otra hacia la región ventral. Las arterias eran superficiales y claramente visibles. La arteria dorsal se ramificó profusamente, y alcanzó el *caput* y el *corpus* epididimario. Dos ramas separadas de la arteria ventral, alcanzan el testículo, y continúan por una ruta inferior a los conductos eferentes. Una rama de la arteria iliaca irriga a la *cauda* del epidídimo.

El *caput* mostró una clara y marcada lobulación. Presentó entre 14 y 18 lóbulos claramente separados por un tabique intralobular, el cual surge de una delgada cápsula que rodea la totalidad del epidídimo. Se observó un ordenamiento espiral de los lóbulos con conductos alineados.

El *corpus* y la *cauda* mostraron conductos contorneados con una lobulación clara y definida por la presencia de surcos pronunciados. El conducto terminal se presentó contorneado y se continúa con el conducto deferente.

6.2.1.3 Conducto deferente y Glándulas accesorias.

El conducto deferente se presentó en sentido retrógrado al epidídimo (caudo-craneal) a través del mesenterio dorsal, pasando por la región dorsal de la vejiga hasta la porción proximal o cuello de ésta. En el área donde la vejiga se une a la uretra, el conducto deferente se conectó con la base o porción proximal de la glándula vesicular, justo en la zona donde se apreciaban las glándulas ampulares, que son dos pequeñas prominencias que surgen de la base de las glándulas vesiculares. Las glándulas vesiculares en su región distal se enrollaban sobre si mismas. Hacia la base de éstas y adosadas a ellas se encontró la glándula ampular. En la región dorsal de las glándulas vesiculares y de la próstata anterior se encontraron dos abultamientos que constituyen la glándula prostática dorsal. Sobre la uretra y en la base de la vejiga se apreció una estructura lobulada que corresponde a la glándula prostática ventral. La próstata ventral se apreció como una estructura de aspecto triangular, con el lado de mayor tamaño hacia la región caudal, en tanto que los otros dos lados apuntaban hacia los testículos. De la región lateral de la uretra

surgían dos estructuras de aspecto sacular que correspondían a las glándulas bulbouretrales. En la región distal del pene se observaron dos pequeños abultamientos que consideramos corresponden a las glándulas prepuciales. La estructura del pene no varió de la descripción hecha por Carleton (1977) así como Bradley y Schmidly (1987).

Las dimensiones promedio en mm del conducto deferente fueron 13.1 ± 1.8 , en tanto que de uretra 11.55 ± 1.1 . Las dimensiones promedio en mm de las glándulas fueron: vesicular 3.9 ± 0.8 , ampular 2.85 ± 0.6 , próstata ventral 3.6 ± 0.4 , próstata anterior 1.85 ± 0.1 , próstata dorsal 4.6 ± 0.7 , bulbo uretral 2.4 ± 0.4 y prepucial 3.75 ± 0.5 .

A continuación se describen de manera detallada las características histológicas de testículo, epidídimo y glándulas accesorias de los conductos reproductores de ejemplares maduros, primero, y en segundo lugar de ejemplares inmaduros.

6.2.2 Descripción de la anatomía microscópica

6.2.2.1 Testículos

6.2.2.1.1 Ejemplares adultos.

El testículo se encontró envuelto por una cápsula que era una cubierta fibrosa de 20 a 30 μm , que presentó una capa externa de peritoneo visceral, llamada túnica vaginalis y que se apreciaba como una capa de fibras de colágena con algunos fibroblastos; a continuación, la túnica albugínea, presentó gran cantidad de fibras de colágena, en algunas zonas éstas se observaron con disposición oblicua y en otras con disposición circular. En algunas áreas se apreció mayor cantidad de tejido conectivo de tipo denso irregular. Se observaron escasas células de tejido muscular entremezcladas con el tejido conectivo denso y formaban una capa de dos a tres capas de células. En la zona más profunda se encontró la túnica vasculosa, la cual se presentó como una extensión del tejido intersticial, que constó de vasos sanguíneos, fundamentalmente vénulas y capilares, y algunas células de Leydig

entre tejido conectivo laxo areolar. En esta zona destacaban fundamentalmente tres vasos de gran calibre, los cuales son arterias. Estas tres arterias se localizaron en la región craneal del testículo y presentaron un diámetro de 200 a 250 μm (figuras 9A, 9B y 9C).

El tejido intersticial presentó vasos sanguíneos abundantes y escasos linfáticos, así como fibroblastos, células de Leydig y otros tipos celulares, entre ellos mastocitos. Las células de Leydig presentaron núcleos esféricos y ovoides y se encontraron alrededor de los vasos sanguíneos. Las células de Leydig se localizaron en grupos delimitados por algunas células de tipo endotelial. (Figura 9D).

Los túbulos seminíferos presentaron una lámina basal cuyo espesor fue de 2 a 4 μm con fibras de colágena y también células del tipo mioepitelial. Las células germinales mostraron asociaciones con una disposición de tipo radial, con espermatogonias basales y espermatozoides lumbinales (fig. 9E), con células de Sertoli conspicuas y de gran tamaño (fig. 9F).

En el análisis detallado de los túbulos seminíferos del testículo se observaron, por lo menos, seis asociaciones celulares y las describimos a continuación:

I.- Espermatogonias A (presentes en todos los estadios) y B, Espermatocitos primarios leptoténicos y paquiténicos, Espermatidas tempranas (fig. 10A).

II.- Espermatocitos primarios leptoténicos, zigoténicos, paquiténicos y Espermatidas intermedias. (fig. 10B)

III.- Espermatogonias B. Espermatocitos leptoténicos. Espermatidas tempranas y avanzadas. (fig.10C)

IV.- Espermatogonias B. Espermatocitos zigoténicos y paquiténicos. Espermatidas tempranas. (fig 10D)

V: Espermatogonias B. Espermatocitos leptoténicos y diploténicos. Espermatidas intermedias y Espermatidas avanzadas. (fig. 10E)

VI.- Espermatogonias B, Espermatocitos zigoténicos y paquiténicos. Espermatocitos secundarios y Espermatidas intermedias. (fig. 10F)

El diámetro de los túbulos varió de 150 a 350 μm

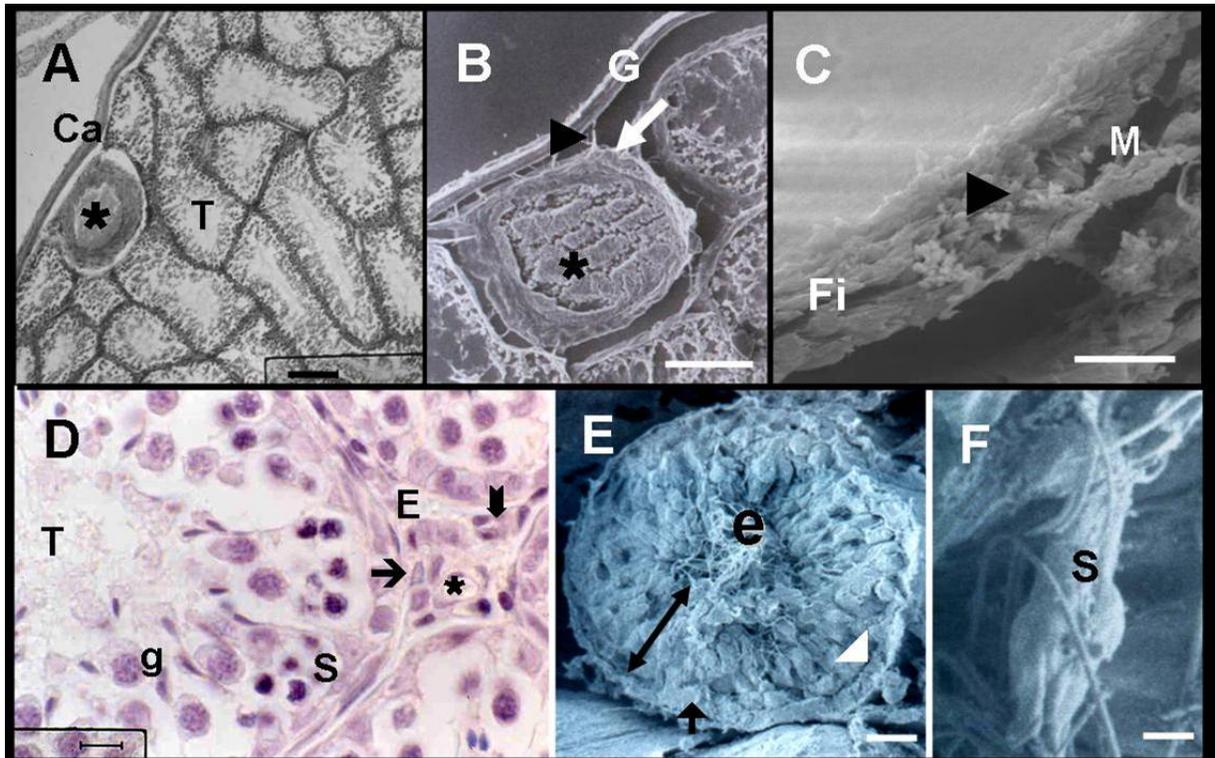


Fig. 9 A. Fotomicrografía del testículo de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital donde se aprecia la relación de los túbulos seminíferos (T) con las tunicas de la cápsula (Ca) con una arteria (*) (H-E, barra=100 μ m) **B.** Electromicrografía de barrido de la región de la imagen anterior que muestra fibras (\blacktriangleright), presumiblemente de colágena, que unen a la túnica albugínea (G) con la túnica vasculosa (\rightarrow). (barra=100 μ m) **C.** Electromicrografía de barrido de la túnica albugínea con fibras (\blacktriangleright), fibroblastos (Fi) y células musculares (M) (barra=20 μ m). **D.** Fotomicrografía de túbulos seminíferos (T), células germinales (g), células de Sertoli (S) y espacio Intersticial (E) de Testículo de *P. winkelmanni* con vasos sanguíneos (*) y células de Leydyg (\rightarrow) y Mastocitos (\blacktriangledown). (H-E, barra=25 μ m). **E.** Electromicrografía de barrido de un túbulo seminífero con espermatogénesis de distribución radial (\leftrightarrow). Lámina basal (\blacktriangleleft) Espermatogonias (\blacktriangleright) y espermatozoides (e) (barra=30 μ m). **F.** Electromicrografía de barrido de Célula de Sertoli (S). (barra=10 μ m).

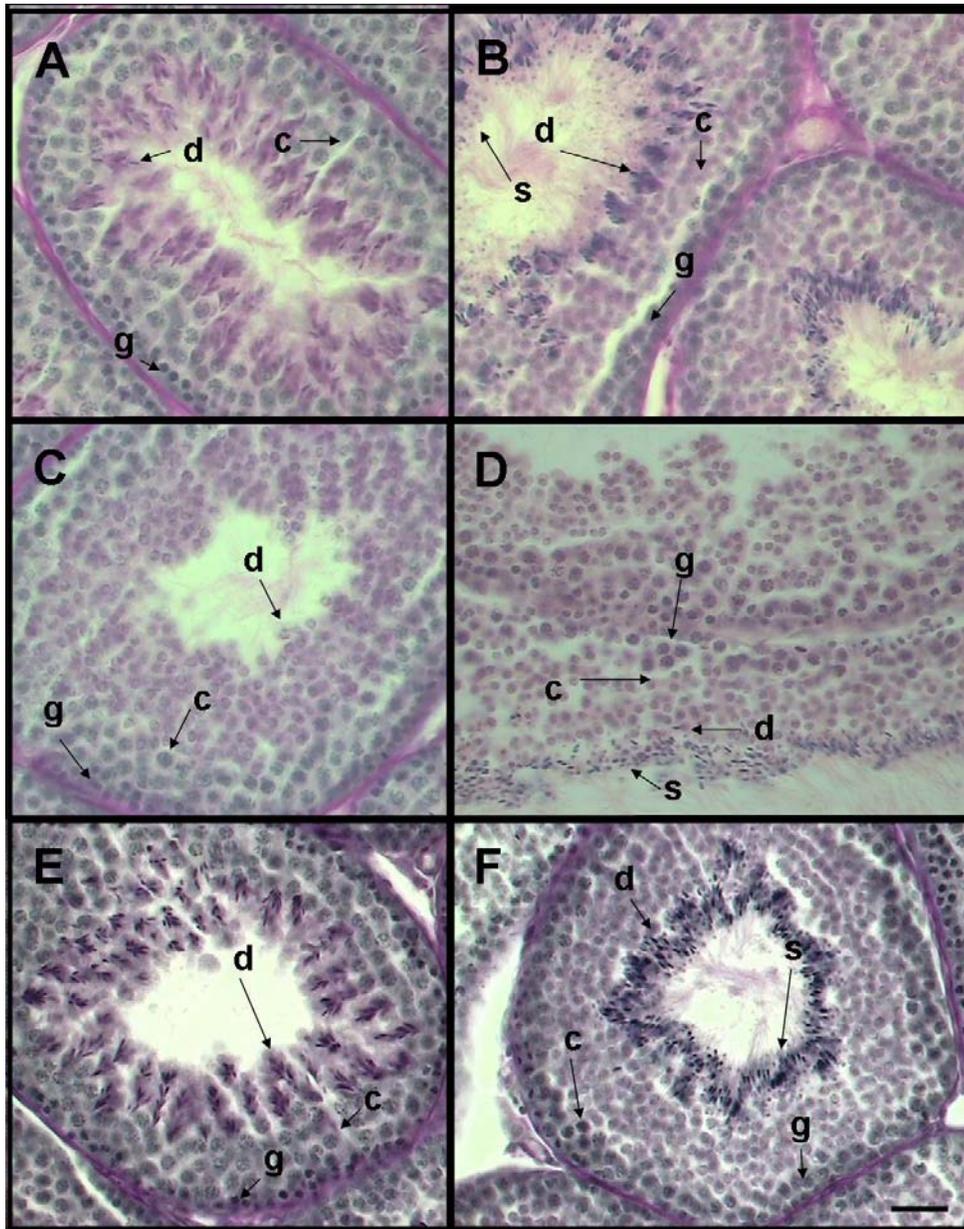


Fig. 10. Fotomicrografías de testículo de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital en las que se muestran túbulos seminíferos en corte transversal con diferentes asociaciones del ciclo del epitelio seminífero de ejemplar activo (H-E, Barra=25 μ m). **A.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c) y espermatídas (d) **B.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c), espermatídas (d) y espermatozoides (s) **C.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c) y espermatídas (d) **D.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c), espermatídas (d) y espermatozoides (s). **E.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c) y espermatídas (d). **F.** Espermatogonias (g), espermatocitos (c), espermatídas (d) y espermatozoides (s).

Es importante señalar que los túbulos con espermatozoides se observaron en mayor número en la región craneal del testículo, en tanto que los túbulos con asociaciones celulares menos diferenciadas y espermatozoides se encontraron en la región caudal.

Los diámetros de las células y de los núcleos de los tipos celulares del túbulo y espacio intersticial de *P. winkelmanni* fueron: Espermatogonias $4.9 (\pm 1.5) \mu\text{m}$ y $2.8 (\pm 0.5) \mu\text{m}$, espermátocitos $7.3 (\pm 1.6) \mu\text{m}$ y $4.8 (\pm 1.1) \mu\text{m}$, espermátidas $6.4 (\pm 2.1) \mu\text{m}$ y $3.8 (\pm 1.3) \mu\text{m}$, células de Sertoli $14.2 (\pm 1.8) \mu\text{m}$ y $6.5 (\pm 1.8) \mu\text{m}$, células de Leydig $9.1 (\pm 1.6) \mu\text{m}$ y $4.3 (\pm 1.1) \mu\text{m}$.

En la figura 11 se presentan asociaciones celulares que podrían considerarse intermedias entre los ejemplares maduros y los inmaduros. Estas asociaciones se distinguen de las de los maduros por un menor número de niveles y tipos celulares de espermatogonias a espermátidas avanzadas.

Los túbulos rectos mostraron un epitelio simple cúbico bajo. El núcleo de estas células se observó en algunos casos heterocromático y en otros con zonas eucromáticas. Este epitelio se encuentra apoyado en tejido conectivo laxo areolar (figura 12A).

En la red testicular el epitelio de revestimiento a nivel de la red septal va de simple aplanado a cúbico; tanto en la red mediastinal como en la red extratesticular el epitelio es simple cúbico, aunque se aprecia una variación en su longitud, la cual aumenta conforme se acerca a la zona de transición con los conductos eferentes. En este epitelio, se apreciaron en mayor cantidad núcleos eucromáticos, incluso algunas células mostraron nucléolo. El citoplasma de estas células es acidófilo claro y no se apreciaron especializaciones en la superficie apical (figura 12B).

El epitelio se presentó apoyado en tejido conectivo laxo areolar. Conforme la red testicular estableció comunicación con el epidídimo a través de los conductos eferentes el epitelio se transformó en cúbico y con microvellosidades. Además, las células mostraron un aspecto vesiculoso lo que sugiere actividad secretora (figuras 12C y 12D).

La lámina basal no es evidente y el tejido conectivo en el que se apoya el

epitelio es de tipo denso irregular a nivel de la red septal, en tanto que en la red mediastinal y extratesticular es de tipo laxo areolar. La vascularización no es muy abundante y las fibras musculares están ausentes.

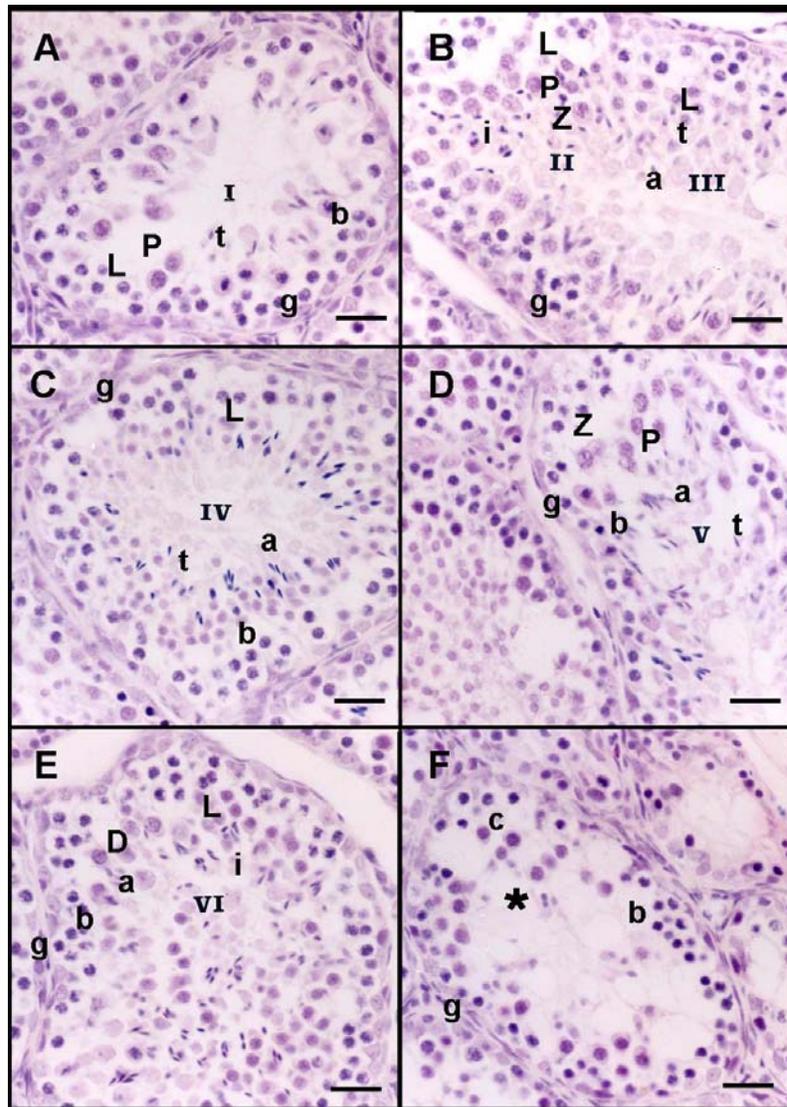


Fig. 11. Fotomicrografías de testículo de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital en las que se muestran túbulos seminíferos en corte transversal con diferentes asociaciones del ciclo del epitelio seminífero de ejemplar en proceso de regresión gonadal estacional (H-E, Barra=25 μ m) **A.** Espermatogonias (**g**) **A** (presentes en todos los estadios) y **B** (**b**). Espermátocitos primarios leptoténicos (**L**) y paquítenicos, (**P**). Espermátidas tempranas (**t**). **B.** Espermátocitos **L**, **P** y zigoténicos (**Z**), y espermátidas intermedias (**i**) **C.** Espermatogonias **b**. Espermátocitos **L**. Espermátidas **t** y avanzadas (**a**). **D.** Espermatogonias **b**. Espermátocitos **Z** y **P**. Espermátidas **t**. **E.** Espermatogonias **b**. Espermátocito **L** y Diploténicos (**D**). Espermátidas **i** y **a**. **F.** Espermatogonias **b**, Espermátocitos **Z** y **P**. Espermátocitos secundarios (**s**) y Espermátidas **i**. **G.** Espermatogonias **g** y espermátocitos (**c**) y células anormales (*****).

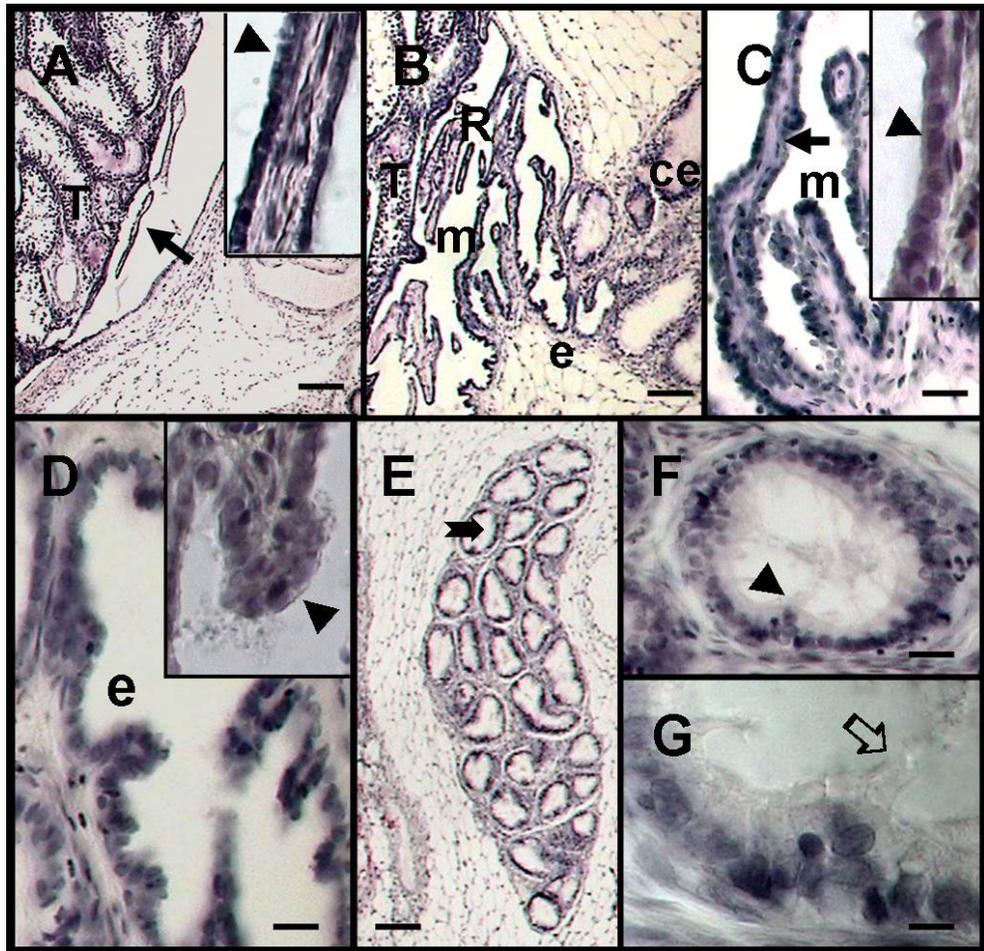


Fig. 12. **A.** Fotomicrografía de la red testicular de *Peromyscus winkelmanni* en su región septal; túbulos seminíferos (T), septo (\blackleftarrow) (H-E, barra=200 μm). En el recuadro se aprecia el epitelio simple cúbico bajo (\blacktriangle) que reviste a los septos (H-E, barra=10 μm). **B.** Fotomicrografía de la red testicular de *P. winkelmanni* en su región mediastinal (m) y extratesticular (e); túbulos seminíferos (T), túbulos rectos (R) y conductos eferentes (ce) (H-E, barra=100 μm). **C.** Fotomicrografía de la red testicular de *P. winkelmanni* en la región mediastinal (H-E, barra=50 μm). En el recuadro se aprecia el revestimiento epitelial simple cúbico alto (\blacktriangle) (H-E, barra=10 μm) **D.** Fotomicrografía de la red testicular de *P. winkelmanni* en la región extratesticular (H-E, barra=50 μm). En el recuadro se observa revestimiento epitelial simple cúbico con algunas células con proyecciones apicales (\blacktriangle) (H-E, barra=10 μm) **E.** Fotomicrografía de los conductos eferentes (\blackleftarrow) de *P. winkelmanni* (H-E, barra=100 μm). **F.** Fotomicrografía de un conducto eferente con revestimiento epitelial simple pseudoestratificado cúbico (\blacktriangle) (H-E, Barra=50 μm). **G.** Epitelio de un conducto eferente en el que se aprecian células con especializaciones apicales (\rightleftarrows) (H-E, barra=10 μm).

6.2.2.1.2 Ejemplares juveniles.

En estos individuos se apreció una túnica vaginalis muy delgada. Por otro lado, no se distinguieron claramente la túnica albugínea de la vascular, pues se presentaron como una sola.

El espacio intersticial es mínimo, pues el testículo mostró un aspecto de túbulos fuertemente adosados. Sin embargo, es posible observar tres tipos de células: de núcleo pequeño, esférico irregular con gránulos de heterocromatina; ovoide alargado; y aplanado. Se considera que éstos corresponden a células de Leydig, fibroblastos y endoteliales, respectivamente. No se observaron mastocitos.

La organización histológica del testículo de los individuos inactivos de *Peromyscus winkelmanni* mostró túbulos delimitados por una lámina basal conformada por células de núcleo aplanado. Los túbulos presentaron una luz representada por un espacio mínimo o definitivamente no mostraron luz. Se apreciaron dos tipos celulares: espermatogonias y de Sertoli.

Las células de Sertoli presentaron un núcleo que va de esférico a ovoide irregular, con un nucléolo de gran tamaño y eucromatina; el núcleo se encontró generalmente cercano a la lámina basal. El citoplasma fue ligeramente acidófilo y de forma irregular.

Las espermatogonias ocuparon la mayor parte del área del tubo seminífero. Presentaron un núcleo que va de ovoide a esférico a ligeramente anguloso, ya que adoptaban la forma del espacio que ocupaban en el tubo. El núcleo contenía gránulos de heterocromatina y en algunos casos denotaron un arreglo de célula en división celular. El citoplasma fue ligeramente acidófilo y escaso (Figura 13).



Fig. 13. Fotomicrografía de testículo de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital en las que se muestran túbulos seminíferos en corte transversal de ejemplar juvenil (H-E, Barra=25 μ m) **A.** Células de Sertoli (\rightarrow) y espermatogonias (**g**).

6.2.2.2 Epidídimos

6.2.2.2.1 Ejemplares adultos.

Se observaron de 14 a 20 conductos eferentes con epitelio pseudoestratificado cilíndrico con estereocilios y luz (con un diámetro de 85 a 100 μm) libre de espermatozoides. El espacio intersticial presentó tejido conectivo laxo areolar con escasas fibras de músculo liso.

El análisis de los conductos epididimarios permitió identificar siete zonas con características citológicas específicas (figura 14).

6.2.2.2.1.1 *Caput*

6.2.2.2.1.1.1 Zona I.

En la región de transición entre los conductos eferentes terminales y el *caput* del epidídimo se presentan conductos con un epitelio simple cilíndrico alto, con células principales, basales y apicales. Las células principales presentan núcleo esférico con heterocromatina granular y hasta dos nucleolos; la posición de la mayoría de los nucleos es basal, sin embargo es posible encontrar algunos desplazados hacia la región media y apical, presentan estereocilios de grandes dimensiones, de manera que cubren la mayor parte de la luz. Las células apicales presentan núcleos piramidales con heterocromatina granular y algunas muestran nucleolo. Las células basales presentan núcleo pequeño heterocromático y apoyado sobre la superficie basal. Se observan linfocitos entre las células epiteliales. Los espermatozoides son escasos en este tipo de conductillos. El tejido intersticial muestra tejido conectivo laxo areolar con capilares de pequeño calibre y escasas fibras musculares anulares. Los espermatozoides son escasos en este tipo de conductos (figura 15-I).

6.2.2.2.1.1.2 Zona II.

Los conductos de esta zona presentan un epitelio cilíndrico bajo, con células principales diferentes a las de la región anterior y células basales sin diferencias, no se observan células apicales. El núcleo de las células principales es de esférico a

ligeramente ovoide, con eucromatina, con granulaciones heterocromáticas, algunos presentan nucleolo. El núcleo ocupa la región basal de la célula, el citoplasma supranuclear presenta vesículas finas. Estas células principales presentan estereocilios de gran tamaño. Se observaron algunos capilares intraepiteliales. La luz de estos conductos muestra escasos espermatozoides (figura 15-II).

6.2.2.2.1.1.3 Zona III.

Esta zona se encuentra en la región distal del *caput* epididimario. Muestra epitelio columnar alto, con células principales que muestran un núcleo ovoide, ligeramente heterocromático, citoplasma vacuolado y pequeños estereocilios. A diferencia de la zona anterior se observan células apicales. Las células basales son similares a las presentes en las regiones anteriores. Pocos espermatozoides se encontraron en la luz (figura 15-IIIa). Se observaron numerosos capilares intraepiteliales (figura 15-IIIb).

6.2.2.2.1.1.4 Zona IV.

Esta zona presentó conductos con epitelio columnar bajo. Con células, en contraste con las otras zonas, de escaso citoplasma, gran cantidad de vesículas exocíticas, y sin estereocilios. Sin embargo, las células principales mostraron una chapa estriada. Esta zona, también, presentó células basales. Se encontraron escasos espermatozoides en la luz (figura 15-IV).

6.2.2.2.1.1.5 Zona V.

Esta zona muestra conductos con epitelio cúbico con células principales de escaso citoplasma, núcleo basal ovoide y eucromático. Presentaron estereocilios pequeños. Las células basales fueron escasas. En la luz se apreciaron numerosos espermatozoides, sin ordenamiento definido (figura 15-V).

En la periferia de los conductos de las zonas I a la V, del *caput* epididimario, se observó tejido conectivo fibroso. Las fibras agupan a varios conductos en pequeños lóbulos. El espacio intersticial fue delgado y mostró tejido conectivo laxo

con capilares.

6.2.2.2.1.2 Corpus

6.2.2.2.1.2.1 Zona VI.

Esta zona mostró conductos con epitelio columnar bajo que incluye células principales y basales. Las células principales presentan estereocilios cortos. La disposición de las fibras es similar a la observada en el *caput*. El espacio intersticial fue más amplio que el del *caput*, y presentó capilares, arteriolas y sinusoides linfáticos. Se observaron espermatozoides distribuidos irregularmente en la luz (figura 15-VI).

6.2.2.2.1.3 Cauda

6.2.2.2.1.3.1 Zona VII.

Los conductos de la región caudal mostraron epitelio columnar alto, constituido por células principales, pocas células basales y células claras. Las células basales presentaron núcleo ovoide y escaso citoplasma supranuclear no vesiculado y estereocilios cortos. También se observaron caveolas intraepiteliales. El tejido conectivo fue similar al de *caput* y *corpus*, pero con una capa muscular, dispuesta circularmente, más gruesa. La luz se encontró ocupada por abundantes espermatozoides dispuestos irregularmente (figura 15-VII).

La afinidad tintorea del epitelio es diferente en las distintas zonas. Las zonas I, II y VII mostraron ser intensamente PAS positivas. En tanto que las zonas III, IV, V y VI se tiñeron ligeramente. Por otro lado, el epitelio de las zonas I y II se tiñeron con azul de alciano, mientras que las zonas III, IV, V, VI y VII fueron azul de alciano negativas (figuras 17A y 17B).

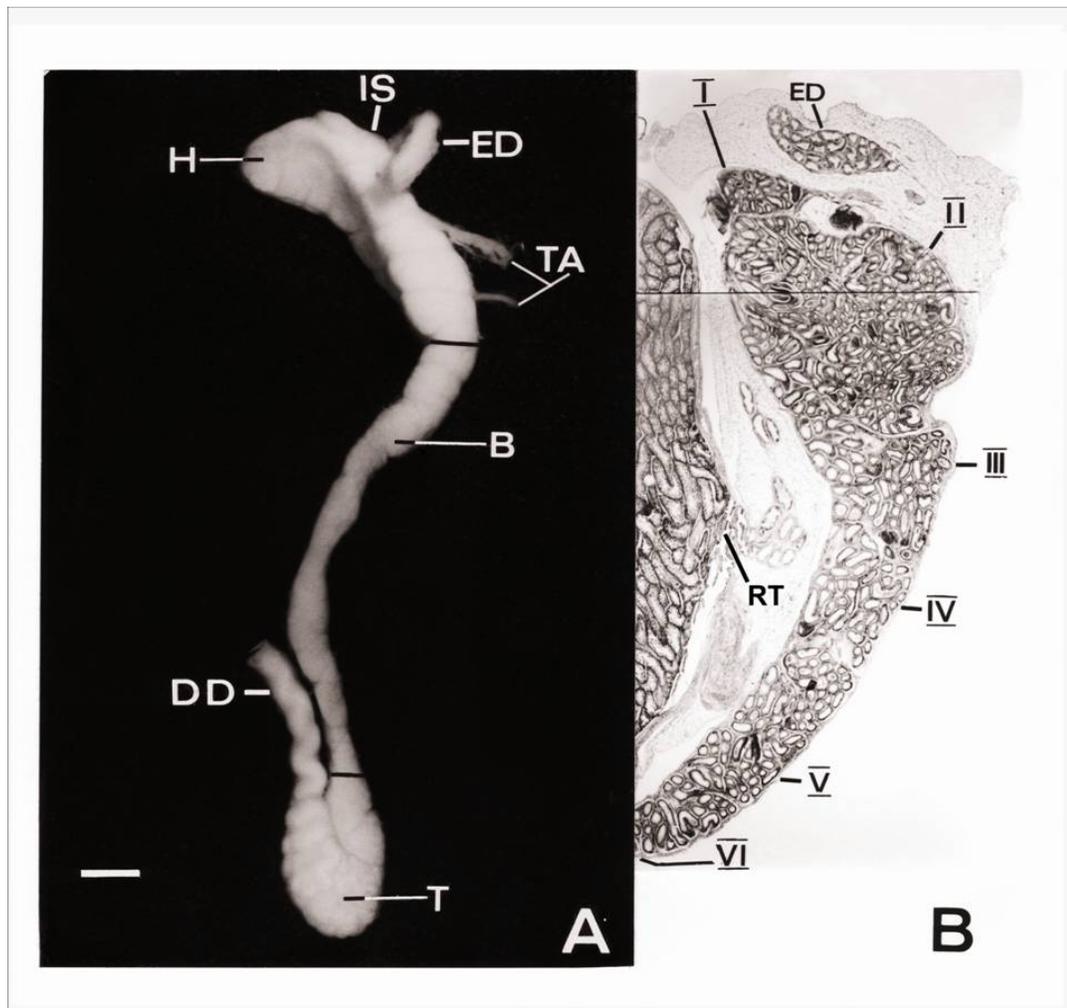


Fig. 14. Epidídimo de ejemplar adulto activo de *Peromyscus winkelmanni* **A.** Vista externa ventrolateral que muestra las regiones anatómicas: Segmento inicial (IS), “Caput” (H), “Corpus” (B) y “Cauda” (T). Se aprecian las lobulaciones que constituyen al órgano. La grasa epididimaria se retiró para exponer a los conductos eferentes (ED), las ramas de la arteria testicular (TA) y el conducto deferente (DD) (Barra=500 μ m). **B.** Corte sagital. Las marcas corresponden a la zonación interna de el epidídimo descrita en el texto. Se observa la distribución de las diferentes zonas en la caput (I, II, III, IV y V) y en el Corpus (VI). (RT) “rete testis”, (ED) conducto eferente. (Barra=100 μ m).

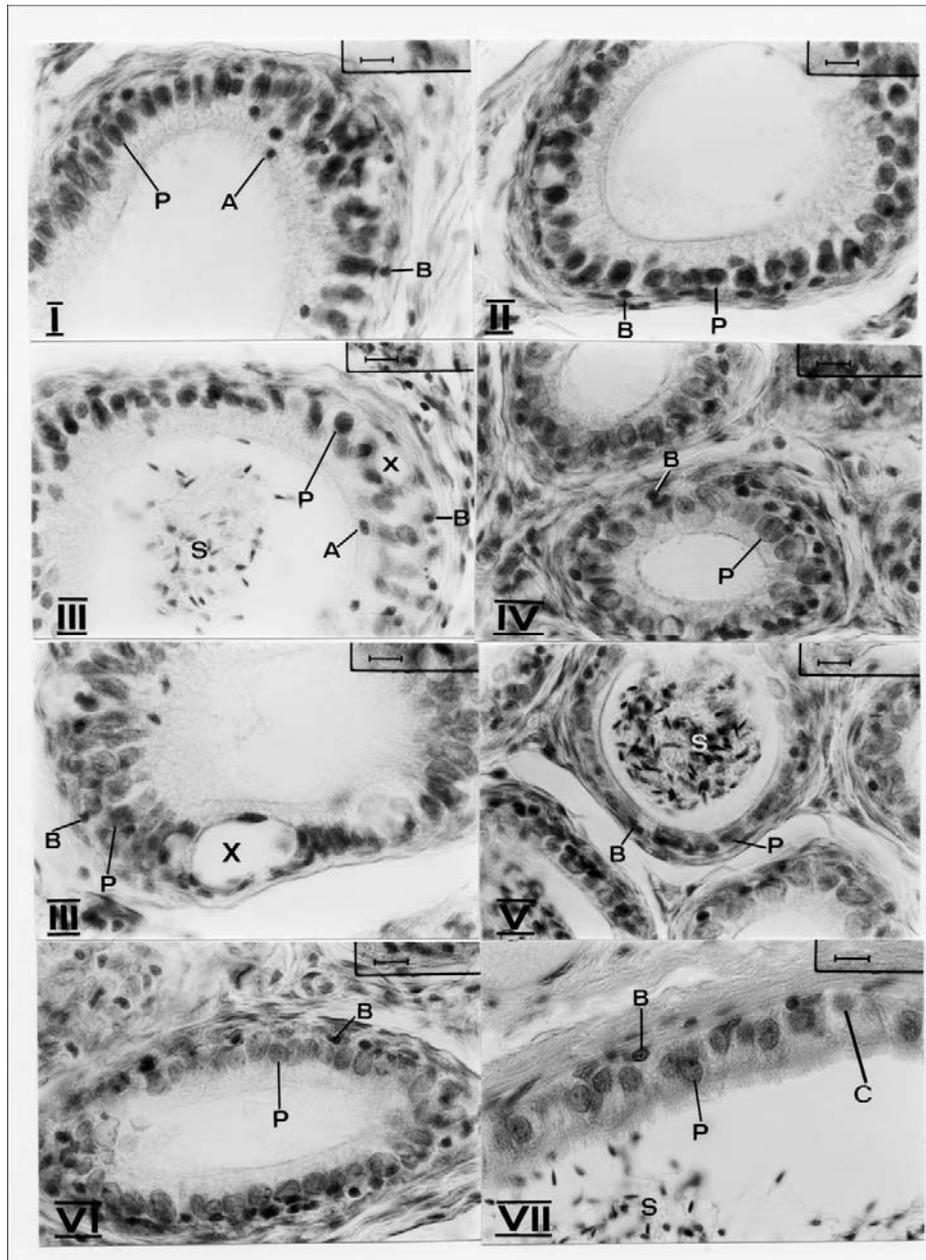


Fig. 15. Fotomicrografías que comparan los diferentes tipos de epitelio de los conductos epididimarios. Los números romanos corresponden a las diferentes zonas. Note las diferentes características de el epitelio (altura y tipos celulares) y los espermatozoides (**S**) de cada zona. (**X**) capilar “intraepitelial”, (**P**) célula principal, (**B**) célula basal, (**A**) célula apical y (**C**) célula clara (H-E, Barra=10 μ m).

6.2.2.2.1.4 Morfometría

Los conductos eferentes presentaron un diámetro promedio de $92.5 \pm 10.60 \mu\text{m}$, en tanto que los deferentes fueron de $160 \pm 14.14 \mu\text{m}$. La altura de las células epiteliales principales se encuentra en el intervalo de 6.73 a 25.59 μm . Las células epiteliales de mayor altura se localizaron en la zona I, mientras que las más pequeñas en la zona V. La longitud de los estereocilios se encuentra en el intervalo de 1.417 a 4.933 μm ; las células de la zona I mostraron los estereocilios de mayor longitud, en tanto que las células de la zona V presentaron los estereocilios de menor dimensión. El índice espermático presentó una variación que va de 0.7 a 92.267; la zona I presentó la menor cantidad de espermatozoides y la zona VII la mayor cantidad. El área luminal de los conductos epididimarios se encontró en el intervalo de 393.7 a 3946.9 μm^2 . La zona V mostró el área menor, mientras que la zona VII el área mayor. El diámetro mayor de los conductos epididimarios se encontró en intervalo de 80.23 a 262.66 μm . Los conductos de la zona V presentaron el menor diámetro, en tanto que los conductos de la zona VII presentaron los de mayor diámetro (Tabla 3).

Estos datos muestran las siguientes tendencias: los conductos muestran diferencias significativas entre las siete zonas en cuanto a la altura del epitelio. La longitud de los estereocilios presenta diferencias significativas entre las zonas del *caput* y del *corpus* comparados con la *cauda*. El área luminal y el índice espermático muestran diferencias significativas entre las zonas de las tres regiones (*caput*, *corpus* y *cauda*). El índice espermático se incrementa cuando la altura del epitelio y la longitud de los estereocilios decrece. Por otro lado, el diámetro de los conductos epididimarios, excepto en la zona V, tiende a ser uniforme en los conductos del *caput* y diferente comparado con las zonas VI (*corpus*) y VII (*cauda*), mientras que el área luminal muestra diferentes diámetros en cada región (*caput*, *corpus* y *cauda*).

Tabla 3. Análisis comparativo de la altura de las células principales y de sus estereocilios del epitelio epididimario, Índice espermático, área luminal, y diámetro mayor de los conductos de diferentes zonas del epidídimo de ejemplares adultos activos de *Peromyscus winkelmanni*.

| ZONAS | Altura del epitelio (μm) | Longitud de estereocilios (μm) | Area luminal (μm^2) | Diámetro mayor (μm) | Índice espermático (%) |
|-------|---------------------------------------|---|----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
| I | 23.51 ± 1.21^a | 3.81 ± 0.09^a | 1263.59 ± 38.69^a | 204.14 ± 1.36^a | 0.94 ± 0.1^a |
| II | 16.92 ± 0.19^b | 3.93 ± 0.16^a | 598.61 ± 3.44^b | 142.30 ± 0.68^b | 4.03 ± 0.07^b |
| III | 11.40 ± 0.11^c | 3.13 ± 0.07^b | $540.03 \pm 3.12^{b,c}$ | 140.74 ± 0.68^b | 4.61 ± 0.05^b |
| IV | 14.51 ± 0.18^d | 2.99 ± 0.06^b | 749.11 ± 11.63^d | 144.41 ± 1.75^b | $2.02 \pm 0.02^{a,b}$ |
| V | 7.63 ± 0.74^e | 1.72 ± 0.02^c | 470.42 ± 4.52^c | 94.56 ± 0.70^c | 35.77 ± 0.63^c |
| VI | 19.09 ± 0.14^f | 2.86 ± 0.08^b | 2131.90 ± 37.91^e | 184.38 ± 0.65^d | 36.97 ± 0.59^c |
| VII | 20.42 ± 0.35^f | 1.84 ± 0.02^c | 2896.14 ± 61.99^f | 222.99 ± 2.32^e | 59.36 ± 1.81^d |

Promedios con diferentes letras indican una diferencia significativa (Prueba de Tukey, $P < 0.01$)

6.2.2.2.1.5 Microscopía electrónica de barrido.

Los estereocilios en los conductos del *caput* epididimario de las zonas I, II, III y IV fueron gruesos, de gran longitud y ordenados de tal forma que se observaron inclinados. Se apreciaron vesículas y finas fibras en la región luminal. Las vesículas mayores (LV) ($3 \pm 0.3 \mu\text{m}$) fueron localizadas sobre los estereocilios, mientras que las vesículas intermedias (IV) ($1.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$) se encontraron entre los extremos distales de los estereocilios. Las pequeñas vesículas (SV) ($0.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$) se observaron en la región proximal de los estereocilios.

En los conductos de la zona V, los estereocilios fueron cortos y delgados, comparados con otras zonas del *caput* epididimario. No se observaron vesículas y se presentaron escasas fibras finas entre los estereocilios. Los espermatozoides se observaron dispuestos con su eje mayor paralelo a la superficie apical del epitelio y perpendicular al diámetro mayor del conducto epididimario. Los espermatozoides se encontraron en forma de grupos compactos (figura 16A y 16I).

Los conductos del *corpus* epididimario (zona VI) presentan estereocilios más delgados y pequeños que los observados en las zonas I, II, IV y V. Los espermatozoides se observaron en forma de grupos compactos (figura 16B y 16V).

En la *cauda* (zona VII), los conductos epididimarios presentan estereocilios cortos y gruesos. Se observaron los tres tipos de vesículas así como fibras finas. La orientación de los espermatozoides tiende a ser longitudinal formando grandes y compactos paquetes (figura 16C y 16VII).

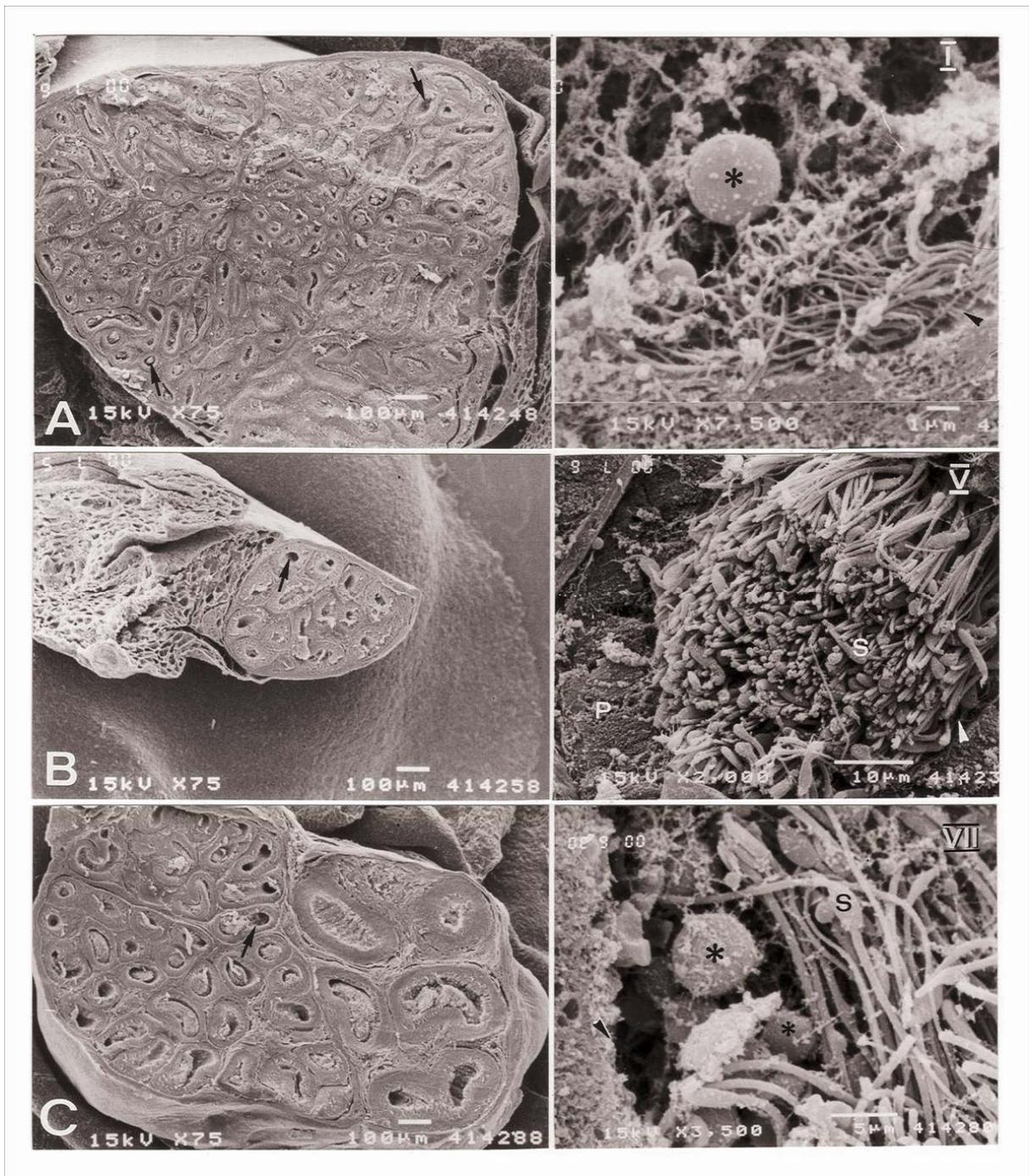


Fig. 16. Electromicrografías del epidídimo de ejemplar adulto activo de *Peromyscus winkelmanni*. **A.** Caput, **B.** Corpus. **C.** Cauda. Las zonas amplificadas están señaladas por las flechas negras. Electromicrografías de las zonas I, V, VI y VII epididimarias. Note el tipo de estereocilios (cabezas de flecha), Células principales (P) vesículas (*), y espermatozoides (S).

6.2.2.2 Ejemplares juveniles.

6.2.2.2.1 Microscopía de luz

Los conductos epididimarios de los ejemplares inmaduros mostraron un epitelio cilíndrico simple, en el que se aprecian dos tipos celulares: cilíndricas con microvellosidades y basales pequeñas. Las primeras se caracterizan por presentar un núcleo ovoide alargado, cuya posición se polariza, principalmente hacia la región basal. El núcleo es eucromático y presenta un nucleolo. El citoplasma de las células cilíndricas muestra un aspecto ligeramente vesiculoso, lo cual sugiere baja actividad secretora. Las microvellosidades que poseen estas células son pequeñas (figuras 17C y 17 D).

Las células basales mostraron un núcleo redondo heterocromático y principalmente se presentan hacia la región basal, sin embargo se encuentran algunos núcleos en la región media.

Los conductos tienen una lámina basal delgada, apoyada en una o dos células musculares lisas anulares. Alrededor de cada conducto hay una delgada capa de tejido conectivo laxo areolar, en el que se aprecian fibroblastos y probablemente mastocitos. La vascularización del epidídimo está dada por arterias y venas de gran calibre en posición superficial, en tanto que se aprecian capilares entre los conductos. Se presentan tabiques de tejido conectivo denso que dividen al epidídimo en lóbulos (figuras 17E y 17F).

No se observaron diferencias secretoras en los conductos de las diferentes regiones del epidídimo (figura 17G).

6.2.2.2.2 Microscopía electrónica de barrido.

En los conductos que corresponden al *caput* del epidídimo de los ejemplares inmaduros de *Peromyscus winkelmanni*, se observaron especializaciones apicales cortas y delgadas, por lo que se consideran que son microvellosidades. Entre estas especializaciones se apreció material vesicular de diferentes dimensiones: de 0.3 a 1.2 μm de diámetro (figuras 18A y 18B).

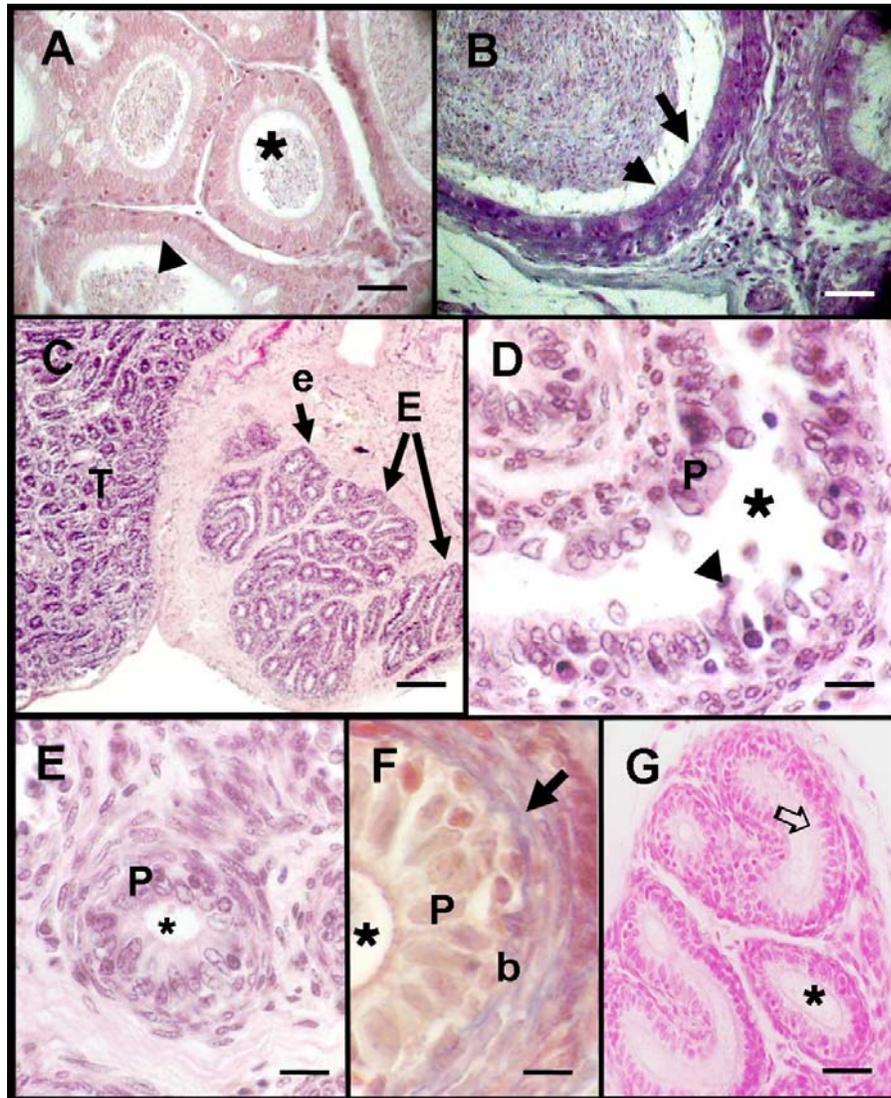


Fig. 17. Fotomicrografías de epidídimo de ejemplares de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital en las que se muestran túbulos en corte transversal. **A.** *Corpus* de ejemplar adulto, luz (★) y superficie apical epitelial azul de alciano negativa (▲) (azul de alciano, barra=100 μm) **B.** *Cauda* de ejemplar adulto, Células claras (→) y secreción PAS negativa (▶) (PAS, barra=100 μm) **C.** Segmento inicial de ejemplar juvenil. Testículo (T), conductos epididimarios (E), conductos eferentes (e) (H-E, Barra=400 μm) **D.** Células principales (P) de segmento inicial de ejemplar juvenil (H-E, Barra=25 μm). **E.** Caput de ejemplar inmaduro. Células principales (P) (H-E, Barra=50 μm). **F.** Caput de ejemplar inmaduro. Células principales (P), células basales (b) y lámina basal (→) (Masson, Barra=25 μm) **G.** Inmaduro (azul de alciano, barra=100 μm). Luz de túbulo epididimario (★), Zona de secreción (⇨).

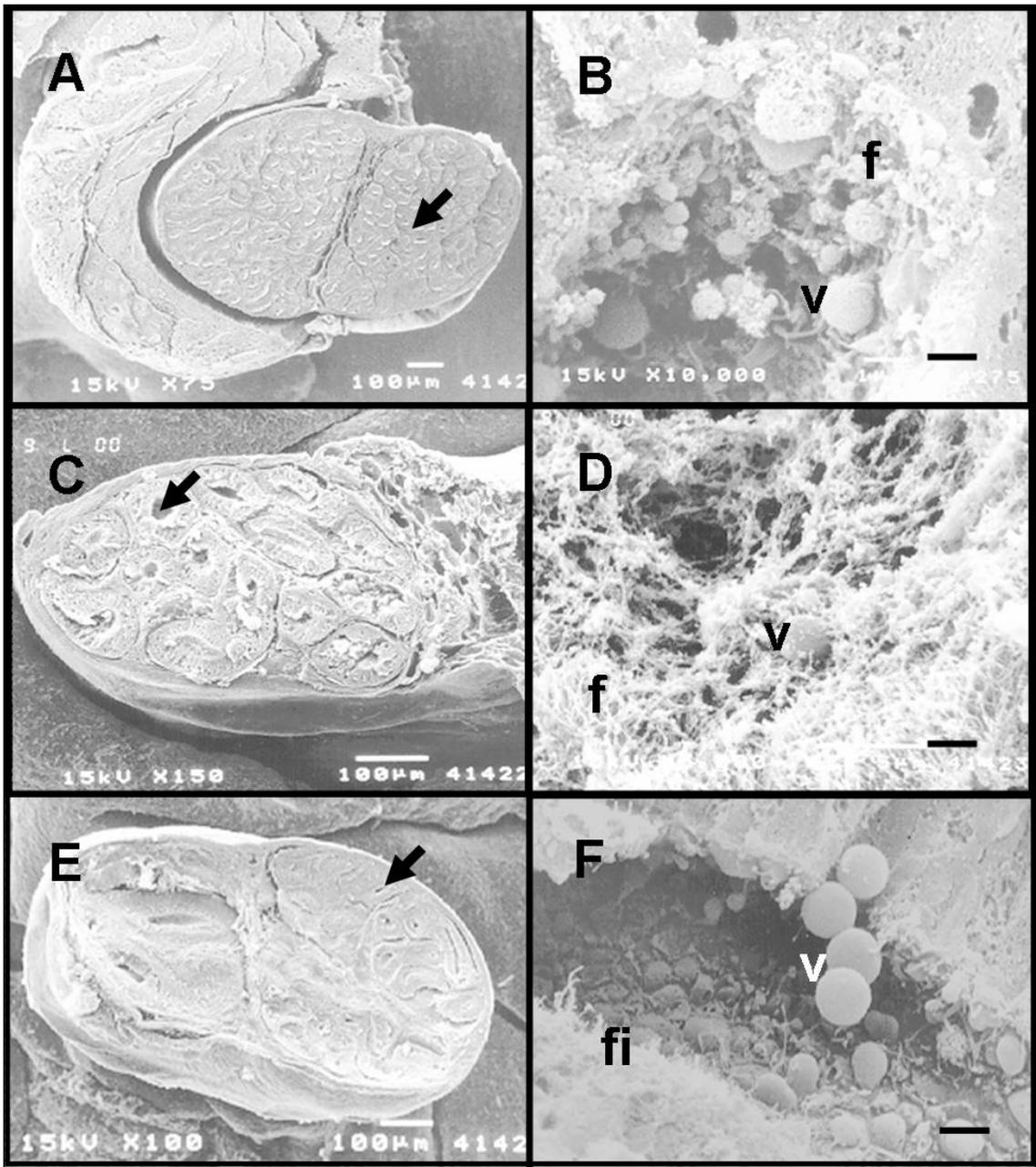


Fig. 18. Electromicrografías de epidídimo de *Peromyscus winkelmanni* juvenil: **A.** *Caput*. **B.** *Caput* con secreción fibrosa (fi) y vesicular (v). **C.** *Corpus* **D.** *Corpus* con secreción predominantemente fibrosa **E.** *Cauda*. **F.** *Cauda* con secreción predominantemente vesicular. Los túbulos amplificados en B, D y F están señalados por las flechas negras en A, C y E.

La superficie apical de la región que corresponde al *corpus* del epidídimo de

ejemplares inmaduros de *Peromyscus winkelmanni* mostró abundantes especializaciones cortas y finas, las cuales, también, se consideran microvellosidades. En esta región se observa escaso material vesicular con dimensiones de $0.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ de diámetro (figuras 18C y 18D).

En la región epididimaria que corresponde a la *cauda*, los conductos presentaron escasas especializaciones cortas y gruesas. Se observaron vesículas con dimensiones de $0.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$ de diámetro (figuras 18E y 18F).

No se observaron espermatozoides en las regiones analizadas.

6.2.2.3 Conducto deferente y Glándulas accesorias.

6.2.2.3.1 Ejemplares adultos.

La organización tisular en todo el trayecto del conducto deferente mostró cuatro túnicas: mucosa, submucosa, muscular y adventicia (figura 19A). Las tunicas presentaron características diferentes entre la región proximal y distal.

El conducto deferente en su porción proximal mostró un gran diámetro, con luz irregular y revestimiento epitelial simple columnar pseudoestratificado, tejido conectivo laxo areolar con abundantes glicosaminoglicanos (figura 19B) y una gruesa capa de tejido muscular liso. Esta capa muscular se encontró dispuesta circularmente en su región interna, espiral en la región media, en tanto que la externa, muy delgada, estaba dispuesta longitudinalmente. La capa externa estaba constituida por conectivo laxo areolar, que representa a la serosa. Se observaron espermatozoides dispuestos irregularmente en la región luminal (figura 19C).

En su región distal la luz del conducto deferente es circular regular. Las paredes se encontraron organizadas tisularmente por una mucosa constituida por epitelio simple cilíndrico ciliado y lámina propia de tejido conectivo laxo; la submucosa es delgada y está constituida por tejido conectivo denso irregular; la capa muscular constituye, prácticamente el 50% del espesor total de la pared. Esta capa presenta músculo liso dispuesto circularmente, en su porción interna, en tanto que se dispone longitudinalmente en su porción externa. La capa adventicia está constituida por tejido conectivo laxo areolar con abundantes vasos sanguíneos y nervios.

La organización tisular de las glándulas vesicular, ampular, y los diferentes lóbulos prostáticos se caracterizan por una mucosa con abundantes pliegues conformados por tejido epitelial simple, de cúbico a cilíndrico. El tejido conectivo de la lámina propia es de tipo laxo, se observan escasas fibras de músculo liso. Es muy notorio el tabique que las divide por ser de tejido conectivo denso irregular (Figuras 19D y 19E).

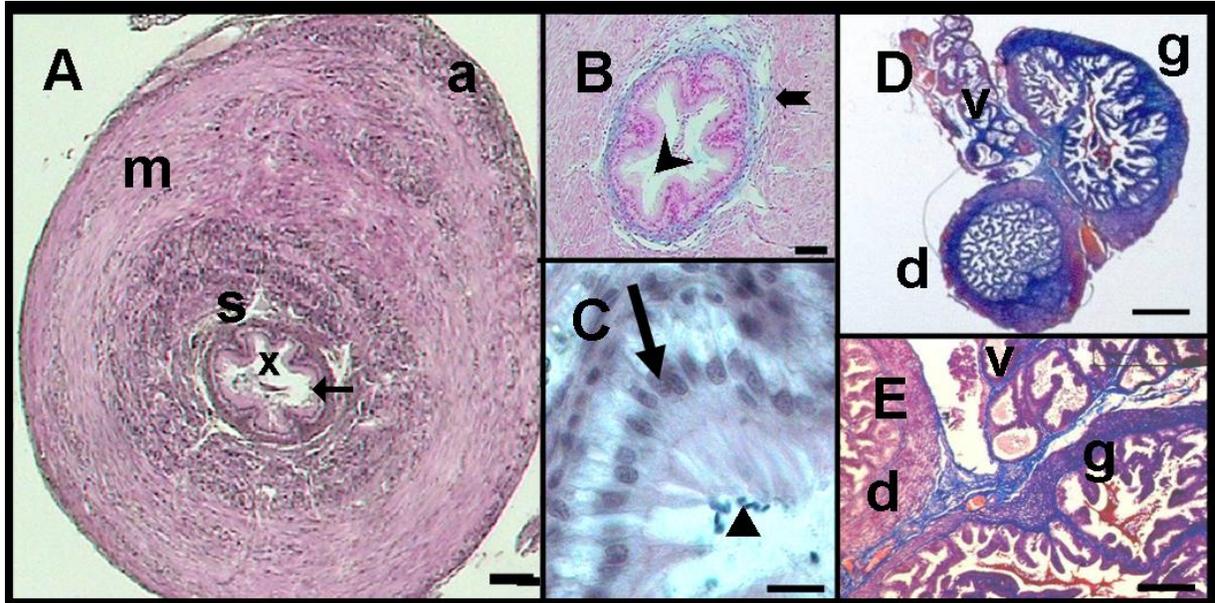


Fig. 19. **A.** Fotomicrografía del conducto deferente en su región proximal de *P. winkelmanni* en el que se aprecian la luz (✕), epitelio (↙), submucosa (S), muscular (m) y la adventicia (a) (H-E, barra=200 μ m). **B.** Fotomicrografía del conducto deferente en el que se observa respuesta al azul de alciano: secreción negativa (▼) y lámina propia positiva (↔) (azul de alciano, barra=50 μ m). **C.** Fotomicrografía del conducto deferente en el que se aprecia epitelio cilíndrico ciliado (→), con espermatozoides (▲) (H-E, barra=10 μ m). **D.** Fotomicrografía del complejo glandular de *P. winkelmanni* en el que se observa a la glándula vesicular (g), próstata dorsal (d) y próstata ventral (v) (H-E, barra=400 μ m). **E.** Fotomicrografía del complejo glandular de *P. winkelmanni* en el que se observa a la glándula seminal (g), a la próstata dorsal (d) y a la próstata ventral (v) con un arreglo característico de la mucosa (H-E, barra=100 μ m).

6.2.2.4 Espermatozoides

El análisis del espermatozoide epididimario caudal de *P. winkelmanni* se presenta considerando, en primer lugar, los hallazgos con microscopía de luz y, en segundo lugar, los correspondientes al análisis con microscopía electrónica. Debido a que no se realizó el estudio de espermatozoides eyaculados, esta sección se ubica antes que el conducto deferente y las glándulas accesorias al tracto reproductor.

6.2.2.4.1 Microscopía de luz.

La cabeza del espermatozoide de *P. winkelmanni* es de perfil lanceolado en vista de perfil y ovoide en vista de frente; en cortes semifinos se aprecia un gancho en el extremo apical. En la cola no se apreciaron segmentos diferentes, excepto la sección más distal a la cabeza que es más delgada. A partir de la medición de los espermatozoides con el analizador de imágenes se determinó que la longitud promedio del espermatozoide de *P. winkelmanni* es de 30.4 a 45.2 μm . Los espermatozoides se observaron agrupados y dispuestos de manera irregular en el conducto epididimario.

6.2.2.4.2 Microscopía electrónica de barrido.

Además de confirmar las características apreciadas con la microscopía de luz, fue posible precisar que la cabeza del espermatozoide de *P. winkelmanni* mostró forma de espátula, con el gancho muy pronunciado en la región apical y que se proyecta hacia la región posterior del espermatozoide, en algunos casos hasta el tercio proximal al cuello. Inmediatamente por detrás de la cabeza se apreció una marcada constricción que corresponde al cuello. La pieza media no se distinguió claramente de la pieza principal, en tanto que la pieza terminal se distinguió en la porción final de la cola (figura 20A).

Se apreciaron espermatozoides de una longitud total aproximada de 45 μm : con una cabeza de 4.5 a 5.2 μm de longitud y de 2.2 a 3.4 μm de ancho.

6.2.2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión.

La disposición irregular de los espermatozoides observada con el microscopio de luz es aparente, ya que en los diferentes niveles de cortes ultrafinos se aprecia el predominio de ciertas regiones del espermatozoide. Es decir, que en ciertos cortes se observan mayor número de cabezas que de colas o se aprecia mayor número de colas a nivel de pieza media que a nivel de pieza principal o viceversa. No obstante, la orientación de los espermatozoides no sigue un patrón definido, ya que no predomina una región del espermatozoide cerca del ápice del epitelio epididimario o hacia la región central de la luz (figura 20B).

6.2.2.4.3.1 Cabeza.

La cabeza del espermatozoide mostró el acrosoma que cubre aproximadamente un tercio de su longitud, apreciándose, en corte sagital que el material acrosómico termina en forma abrupta en la porción ventral, en tanto que en la dorsal su espesor disminuye en forma gradual. El material acrosomal que lo constituye es de menor electrodensidad que la cromatina nuclear (figura 20C). En la porción apical se aprecia un espacio subacrosomal que no es continuo a lo largo de todo el acrosoma. En el gancho característico de la cabeza se apreció material similar al acrosomal, excepto una región en forma de puente que presentó material de mayor densidad. En la región postacrosomal no se apreció la lámina densa, pero sí el anillo posterior.

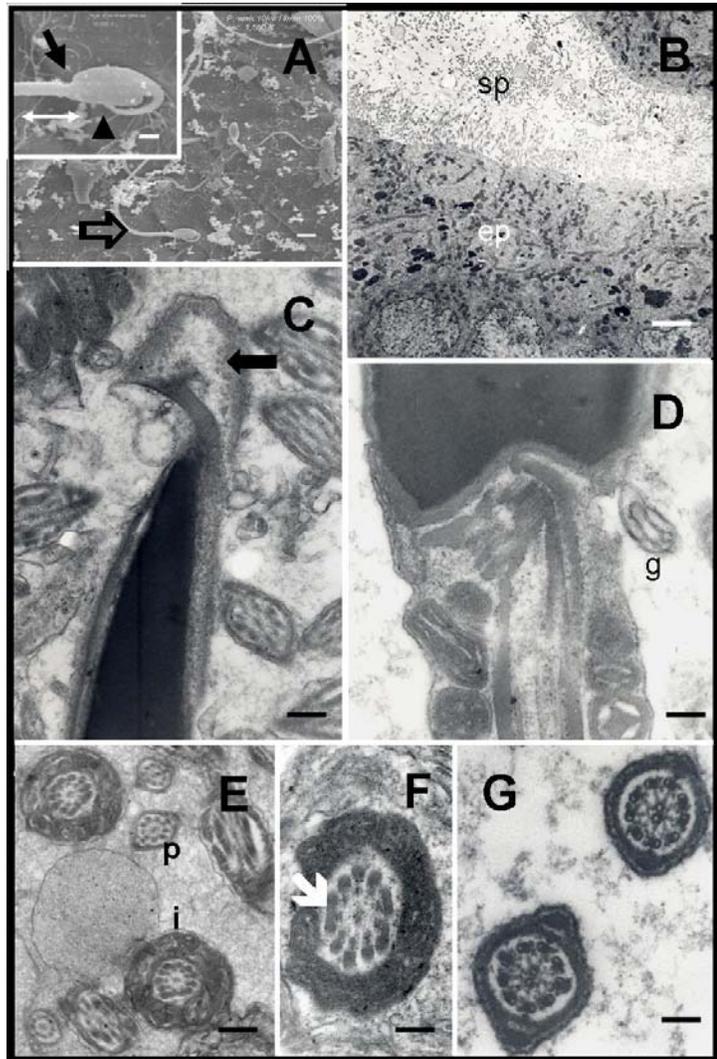


Fig. 20. A. Electromicrografía de barrido de espermatozoides epididimarios de *Peromyscus winkelmanni* en la que se aprecian espermatozoides (⇨) (Barra=100 μ m). En el recuadro se destaca la cabeza con acrosoma en gancho (\blacktriangle), cuello (\rightarrow) y parte de pieza intermedia (\leftrightarrow). (Barra=5 μ m).

Electromicrografías de transmisión de espermatozoide de *P. winkelmanni*: **B.** Túbulo epididimario de *P. winkelmanni*. Se observan abundantes espermatozoides (**sp**) en la luz distribuidos entre los estereocilios de las células del epitelio epididimario (**ep**) (Barra=5 μ m). **C.** Cabeza de espermatozoide a nivel del acrosoma (\blackleftarrow) (Barra=600 nm). **D.** Cuello del espermatozoide con gota citoplásmica (**g**) (Barra=600 nm). **E.** Piezas intermedias (**i**) y principales (**p**) de espermatozoides (Barra=150 nm) **F.** Pieza intermedia del espermatozoide con fibras densas externas (\blacktriangledown) (Barra=400 nm). **G.** Piezas principales del flagelo del espermatozoide con axonema típico (Barra=100 μ m).

El núcleo mostró cromatina compacta con algunas zonas claras. La membrana plasmática se apreció como una doble capa, y en su porción cercana al cuello se distinguió el llamado anillo posterior. En algunos espermatozoides se apreció membrana plasmática remanente cerca del anillo posterior (García *et al.*, 1998).

6.2.2.4.3.2 Cuello.

A continuación de la región posterior de la membrana nuclear se encontró la pieza de conexión cuyo capitel se proyectó sobre la fosa de implantación. Se distinguieron las columnas segmentadas que se continuaron en la pieza media con las fibras densas externas. El centriolo proximal se observó dentro de la pieza de conexión dispuesto en forma transversal. Se apreciaron restos del centriolo distal. Cerca de la pieza de conexión se distinguieron mitocondrias dispuestas circular y oblicuamente. Algunos espermatozoides mostraron gotas citoplásmicas (figura 20D).

6.2.2.4.3.3 Pieza Intermedia.

La pieza intermedia mostró un diámetro de aproximadamente un micrómetro. La vaina mitocondrial, característica de esta región del espermatozoide, mostró, en corte transversal, mitocondrias alargadas con los extremos romos y con un diámetro de alrededor de 300 nanómetros. Se distinguieron tres mitocondrias por sección. En corte longitudinal, las mitocondrias mostraron aspecto de ovoide a circular con crestas definidas.

Las fibras densas externas en los cortes transversales mostraron diferentes tamaños: las 1, 5 y 6 fueron la más grandes y con aspecto doble (100 nm); en tanto que las 7, 8 y 9 presentaron forma de gota y tamaño intermedio (70 nm); las 2 y 3 con un diámetro regular fueron las más pequeñas (50 nm). La disposición y arreglo del axonema fue el típico (figuras 20E y 20F).

6.2.2.4.3.4 Pieza Principal.

Esta región de la cola mostró un diámetro de alrededor de 0.6 micrómetros. La

vaina fibrosa de la pieza principal presentó el arreglo característico: dos columnas longitudinales (ventral y dorsal) unidas por costillas con disposición circular. Sin embargo, no se logró observar si la proyección de estas columnas está asociada a la desaparición de las fibras densas externas vecinas. En los cortes longitudinales mostró una tabicación definida. La disposición y arreglo del axonema fue el típico (figura 20 G).

6.2.2.4.3.5 Pieza Terminal.

El diámetro de esta región fue de cerca de 0.3 μm . En ella se perdía la disposición de los dobletes del axonema.

En la tabla 4 se presentan los hallazgos morfológicos del estudio del aparato reproductor masculino adulto de *Peromyscus winkelmanni*. Se destacan en ella los elementos de la anatomía macroscópica y microscópica (tisulares y celulares) que resultan característicos de la especie.

Tabla 4. Resumen de los hallazgos morfológicos en el aparato reproductor masculino de ejemplares adultos de *Peromyscus winkelmanni* y su comparación con otros grupos.

| Órgano | Región | Hallazgo |
|------------------------------|-----------------------------|--|
| Testículo | | IGS < de 0.65% |
| | Cápsula | Presencia de Mastocitos |
| | Espacio Intersticial | Tipo II |
| | Túbulos seminíferos | 6 asociaciones celulares |
| | Red testicular | Tipo cavitario |
| Conductos eferentes | | 14 a 20 |
| Epidídimo | | |
| | Caput | 5 zonas |
| | Corpus | 1 zona |
| | Cauda | 1 zona. Espermatozoides con fibras densas externas atípicas |
| Conducto deferente | | 4 túnicas |
| Glándula vesicular | | Mucosa con pliegues primarios y secundarios |
| Glándula ampular | | |
| Próstata | Anterior | Dimensiones típicas del grupo <i>Boylei</i> y Mucosa sin pliegues |
| | Dorsal | Dimensiones típicas del grupo <i>Boylei</i> y Mucosa anfractuosa |
| | Ventral | Dimensiones típicas del grupo <i>Boylei</i> y Mucosa con pliegues |
| Glandula bulbouretral | | Dimensiones típicas del grupo <i>Boylei</i> |
| Glándula prepucial | | Dimensiones típicas del grupo <i>Boylei</i> |

6.3 Aparato Reproductor Femenino.

6.3.1 Descripción de la anatomía macroscópica

En la tabla 5 se muestran: fechas de colecta, peso corporal, peso gonadal, índice gonadosomático, apertura vaginal y dimensiones de los cuernos uterinos y la vagina. En la última columna se sugiere la edad de los ejemplares (juvenil y adulto) al comparar estadísticamente los pesos corporales, peso gonadal e índice gonadosomático y encontrar diferencias significativas entre las dos edades (prueba de Tukey, $P < 0.01$), así como el estado del aparato reproductor a partir de la presencia del tipo de folículos, según Pedersen y Peters (1968).

En la tabla se aprecia que los ejemplares hembras colectados en julio de 1994 tuvieron un peso corporal entre 39.6 a 41.2 g; con apertura vaginal en todos los ejemplares. El peso gonadal promedio varió entre 0.0048 ± 0.00006 a 0.0069 ± 0.00014 g; el índice gonadosomático fue de 0.01212 a 0.01675; las dimensiones de los cuernos uterinos varió entre entre 16 a 18 mm (derecho) y 15.5 a 17.7 mm (izquierdo). La longitud de la vagina se encontró entre 9.1 a 9.6 mm. La edad de los ejemplares se consideró adulta.

El peso corporal de los ejemplares hembras colectados en febrero de 1995 fue de 34.1 a 48.2 g; con apertura vaginal en todos los ejemplares. El peso gonadal promedio varió entre 0.0042 ± 0.00014 a 0.0075 ± 0.00028 g; el índice gonadosomático fue de 0.01232 a 0.01556; las dimensiones de los cuernos uterinos varió entre 10.8 a 24 mm (derecho) y entre 6.7 a 23 mm (lado izquierdo). La longitud de la vagina se encontró entre 8.5 a 10.2 mm. Todos los ejemplares se consideraron adultos.

Los ejemplares hembras colectados en febrero de 1997 presentaron un peso corporal entre 30.44 a 44.7 g; los ejemplares de menor peso corporal mostraron la vagina sin apertura, en tanto que los de mayor peso corporal tuvieron apertura vaginal. El peso gonadal promedio varió entre 0.039 ± 0.00028 a 0.0064 ± 0.00028 g; el índice gonadosomático fue de 0.01228 a 0.01431; las dimensiones de los cuernos uterinos varió entre 13.7 a 18.3 mm (derecho) y entre 14.0 a 19.5 mm (lado

izquierdo). La longitud de la vagina se encontró entre 8.2 a 9.5 mm. Dos ejemplares se consideraron adultos y dos juveniles.

El peso corporal de los ejemplares hembras colectados en junio de 1997 fue de 42.1 a 46.8 g; con apertura vaginal en todos los ejemplares. El peso gonadal promedio varió entre 0.06 ± 0.00015 a 0.07 ± 0.00007 g; el índice gonadosomático fue de 0.01425 a 0.1495; las dimensiones de los cuernos uterinos varió entre 14.0 a 14.2 (derecho) y entre 13.6 a 14.0 mm (lado izquierdo). La longitud de la vagina se encontró entre 9.2 a 9.9 mm. Los dos ejemplares se consideraron adultos.

En la colecta de diciembre de 1997 se colectó un solo ejemplar hembra cuyo peso corporal fue de 25.1 g; sin apertura vaginal. Presentó peso gonadal de 0.0019 ± 0.00023 e índice gonadosomático de 0.008. Las dimensiones de los cuernos uterinos fueron de: 10.2 (derecho) y 10 mm (lado izquierdo). La longitud de la vagina fue de 7.9 mm. El ejemplar se consideró juvenil.

Los ejemplares hembras colectados en febrero de 1998 presentaron un peso corporal entre 22.6 a 44.3 g; el ejemplar de menor peso corporal mostró la vagina sin apertura, en tanto que el de mayor peso corporal presentó apertura vaginal. El peso gonadal promedio varió entre 0.0017 ± 0.00011 a 0.0070 ± 0.00031 g; el índice gonadosomático fue de 0.0075 a 0.0158; las dimensiones de los cuernos uterinos varió entre 10.1 a 17 mm (derecho) y entre 10 a 16.8 mm (lado izquierdo). La longitud de la vagina se encontró entre 8.0 a 9.7 mm. El ejemplar de mayor peso se consideró adulto y los de menor peso juvenil.

En la figura 21 se muestran los órganos del aparato reproductor femenino de *Peromyscus winkelmanni* de un ejemplar adulto.

Tabla 5. Fecha de colecta y datos morfofisiológicos del aparato reproductor femenino de *Peromyscus winkelmanni*.

| Fecha de Colecta. | Peso Corporal (g) | Abertura vaginal | Peso gonadal Promedio (g) | IGS (%) | Longitud de órganos reproductores femeninos | | | EDAD ² |
|-------------------|-------------------|------------------|---------------------------|----------|---|------|--------|-------------------|
| | | | | | Dimensiones (mm). | | | |
| | | | | | Cuernos uterinos ¹ | | Vagina | |
| | | | | | D | I | | |
| jul/94 | 41.2* | Si | 0.0069 ± 0.00014* | 0.01675* | 18 | 17.7 | 9.6 | Adulta |
| Jul/94 | 39.6* | Si | 0.0048 ± 0.00006* | 0.01212* | 16 | 15.5 | 9.1 | Adulta |
| Feb/95 | 48.2* | Si | 0.0075 ± 0.00028* | 0.01556* | 24 | 23 | 10.2 | Adulta |
| Feb/95 | 34.1* | Si | 0.0042 ± 0.00014* | 0.01232* | 15.3 | 8.6 | 8.8 | Adulta |
| Feb/95 | 46.5* | Si | 0.0071 ± 0.00042* | 0.01527* | 10.8 | 6.7 | 8.5 | Adulta |
| Feb/95 | 38.2* | Si | 0.0049 ± 0.00007* | 0.01283* | 11.8 | 17.3 | 8.9 | Adulta |
| Feb/95 | 40.4* | Si | 0.0053 ± 0.00023* | 0.01312* | 16.4 | 17.6 | 9.3 | Adulta |
| Feb/97 | 44.7* | Si | 0.0064 ± 0.00028* | 0.01431* | 18.3 | 19.5 | 9.5 | Adulta |
| Feb/97 | 31.44 | No | 0.004 ± 0.00021 | 0.01272 | 14.3 | 14.0 | 8.6 | Juvenil |
| Feb/97 | 30.44 | No | 0.0039 ± 0.00028 | 0.01228 | 13.7 | 14.0 | 8.2 | Juvenil |
| Feb/97 | 40.1* | Si | 0.0056 ± 0.00028* | 0.01396* | 15.2 | 14.4 | 9.4 | Adulta |
| Jun/97 | 46.8* | Si | 0.007 ± 0.00007* | 0.01495* | 14.2 | 14.0 | 9.9 | Adulta |
| Jun/97 | 42.1* | Si | 0.006 ± 0.00015* | 0.01425* | 14.0 | 13.6 | 9.2 | Adulta |
| Dic/97 | 25.1 | No | 0.0019 ± 0.00023 | 0.008 | 10.2 | 10.0 | 7.9 | Juvenil |
| Feb/98 | 44.3* | Si | 0.0070 ± 0.00031* | 0.0158* | 17 | 16.8 | 9.7 | Adulta |
| Feb/98 | 22.6 | No | 0.0017 ± 0.00011 | 0.0075 | 10.1 | 10 | 8.0 | Juvenil |
| Feb/98 | 32.6 | No | 0.0029 | 0.009 | 14 | 13.8 | 8.2 | juvenil |

IGS, índice gonadosomático

1Cuernos uterinos: D, derecho; I, izquierdo.

2 Por tipo de folículos (Pedersen y Peters, 1968) y a partir de peso corporal, peso gonadal e índice gonadosomático (con asterisco indican una diferencia significativa: Prueba de Tukey, P < 0.05).

6.3.1.1 Ovarios

Los ovarios se localizaron en la cavidad abdominal, a ambos lados del área sublumbar. Se encontraron unidos, mediante ligamentos a los extremos craneales de los cuernos uterinos y a la pared de la cavidad dorsal corporal en una posición latero-caudal a los riñones. Dichos ligamentos corresponden al mesovario y el mesosalpinx, descritos en otros roedores.

El mesovario se encontró unido al ovario de manera dorsocraneal y dorsomedial hacia el borde caudal del riñón. En él se aprecian ramas de vasos sanguíneos, que provienen de la aorta dorsal, así como nervios espinales de la región lumbar. El complejo neurovascular llega al hilio del ovario. El mesosalpinx se continúa con el mesovario envolviendo a los cuernos uterinos y al oviducto.

Adosada fuertemente al ovario y a los oviductos se apreció una delgada cápsula membranosa envolvente, que se considera corresponde a la bursa ovárica.

Los ovarios presentaron forma oval o redonda de consistencia firme, tuberculada y con una superficie irregular por la presencia de folículos de diferentes tamaños. Presentaron un color rosa pálido y un peso de 0.0017 a 0.0075 g.

6.3.1.2 Oviductos

Se observaron como conductos contorneados, localizados entre la porción caudal del ovario y la porción craneal del tubo uterino correspondiente. Envueltos por un pliegue peritoneal que se extiende desde los ovarios: Como se señaló en la descripción de los ovarios se considera que el pliegue corresponde al *mesosalpinx*, el cual proviene de la superficie lateral del ovario.

Los oviductos muestran tres segmentos diferenciados que se propone, coinciden con el infundíbulo, el ámpula y el istmo.

El infundíbulo corresponde a la terminación ovárica del tubo uterino. Presentó forma de embudo en la región central en la que se ubicó la abertura abdominal. El margen libre del infundíbulo presentó una estructura en forma de sombrilla unida dorsalmente al ovario y que debe corresponder a la fimbria de otros roedores.

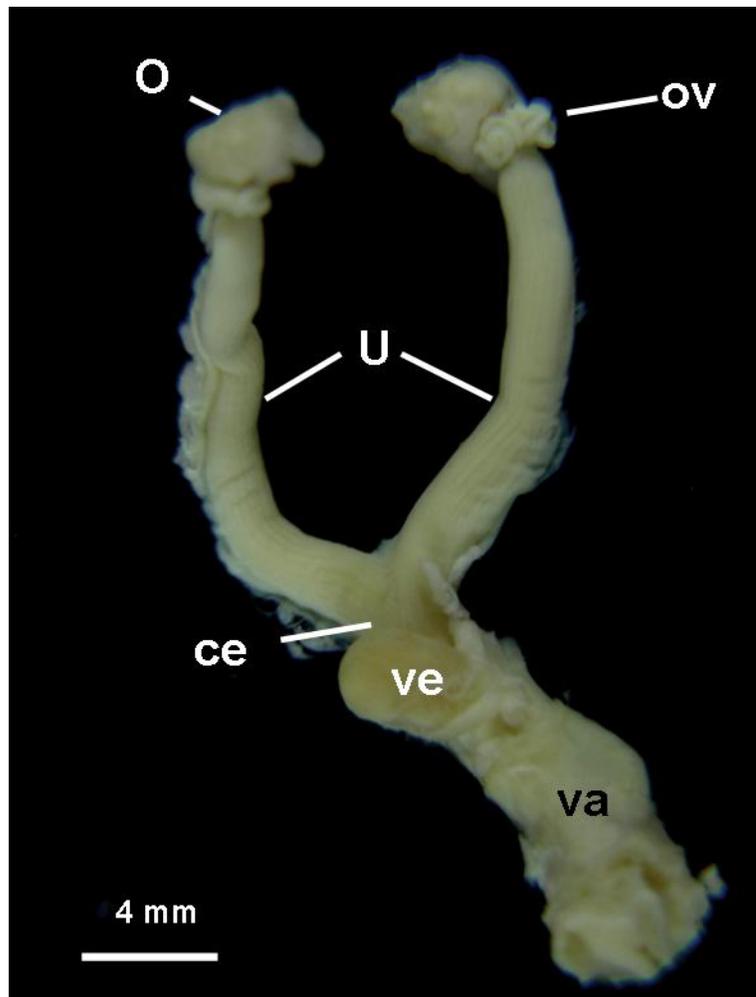


Fig. 21. Aparato reproductor femenino de *Peromyscus winkelmanni* en vista ventral: ovario (O), oviducto (ov), cuernos uterinos (U), cervix (ce), vagina (va), vejiga (ve) (barra= 4 mm).

El ámpula corresponde a una región con el mayor diámetro de los oviductos. Presenta un plegamiento muy intrincado de membrana mucosa.

La porción distal del oviducto, con respecto al ovario, y de menor diámetro, en relación al ámpula correspondió al istmo. El cual se encuentra unido a la porción craneal del cuerno uterino respectivo. La última circunvolución del istmo se arquea sobre el extremo del cuerno uterino. La porción que se proyecta hacia el lumen del útero muestra forma papilar, por lo que puede corresponder al *Colliculus tubarius*. Esta región papilar se une a la región antimesometrial del útero.

La región a través de la cual el oviducto se comunica con el útero y que incluye a la terminación caudal del oviducto y la porción craneal del cuerno uterino corresponde a la llamada unión utero-tubal, la cual se encuentra suspendida por el pliegue peritoneal denominado *mesotubarium* que presentó un segmento de consistencia grasosa (*mesotubarium* inferior) y un segmento con escasa grasa (*mesotubarium* superior).

6.3.1.3 Cuernos Uterinos

Se extiendían desde la porción caudal del oviducto hasta la porción craneal del útero. Presentaron color ligeramente rosado y se encontraron unidos a la cavidad abdominal por un ligamento dorsal, por el cual corría la arteria uterina y el ureter correspondiente a cada riñón. Por su disposición, este ligamento, debe corresponder al ligamento ancho uterino. La arteria uterina, rama directa de la aorta dorsal, se extendía hasta la porción caudal del riñón y corría a lo largo de todo el cuerno uterino en su porción lateral interna. Presentaron una longitud que va de 6.7 hasta 24 mm. En general el cuerno derecho es de mayor tamaño que el izquierdo.

En un ejemplar colectado durante febrero se observaron en los dos cuernos uterinos zonas de pigmentación parda y de forma oval (tres en el derecho y cuatro en el izquierdo) y cuyas dimensiones fueron de: 2 ± 0.47 mm.

6.3.1.4 Utero

Está constituido por la unión caudal de dos cuernos o tubos uterinos, externamente es un solo cuerpo con una porción craneal y otra caudal. La porción cefálica es ancha en su unión con los cuernos. Internamente presentó un lumen doble separado por un tabique intermedio. La porción caudal es delgada y se proyecta hacia la región craneal de la vagina. Internamente presenta un lumen que corresponde a la región del cuello uterino o cérvix.

6.3.1.5 Cérvix

La región del cérvix y la porción proximal de la vagina se encuentran cubiertas

por la Vejiga. El cérvix es una estructura de forma cónica con una pared rígida. Presenta dos canales cervicales angostos que se extienden desde el orificio uterino interno al externo, comunicando al lumen del cuerpo uterino con el de la vagina.

6.3.1.6 Vagina

La región media y distal de la vagina corren a lo largo de la uretra. El mesenterio que sostiene al útero se continúa a los lados de la vagina por lo que ésta se encuentra sostenida a la cavidad abdominal en forma lateral.

La tabla 5 muestra los datos obtenidos de los ejemplares revisados.

6.3.2 Descripción de la anatomía microscópica

6.3.2.1 Ovarios

El ovario se encontró cubierto por una fina capa de epitelio cúbico simple cuya altura es de 7 μm . Esta capa epitelial se unía al mesotelio peritoneal en la región del hilio formando así el mesovario. De la región del hilio se continúa hacia la bursa ovárica representada por epitelio aplanado simple (figuras 22A y 22B).

La capa de epitelio que recubre al ovario se encontró apoyada en tejido conectivo de tipo laxo areolar con abundantes fibroblastos. Zona que se considera corresponde a la túnica albugínea, la cual presenta un espesor que va de 4 a 18 μm y presenta abundantes fibras de colágena de espesor variable. Un gran número de estas fibras se proyectaban hacia la región central del ovario.

La típica organización del ovario en corteza y médula no es muy clara, ya que se observan vasos sanguíneos distribuidos en todo el ovario, si bien se presenta una concentración de vasos sanguíneos de gran calibre hacia la región central, de hecho se presenta una vena de grandes dimensiones que va de la periferia a la porción central. En un ovario con cuerpo lúteo de gran tamaño se aprecian 3 venas y una arteria a su alrededor. En la región que correspondería a la corteza se presentan folículos primordiales de $12 \pm 2 \mu\text{m}$, así como multilaminares de $80 \pm 6 \mu\text{m}$ y de Graff de $170 \pm 12 \mu\text{m}$. Entre los folículos se encuentra tejido conectivo de tipo laxo (figura 22F). El tejido que rodea a los folículos de mayor tamaño muestra un arreglo y una

citología característica de la teca.

Entre los diferentes tipos de folículos se encontraron todos los reportados por Pedersen y Peters (1968), es decir: 1, 2, 3a, 3b, 4, 5a, 5b, 6 7 y 8. Sin embargo, no fue posible encontrarlos en todos los ejemplares. En un análisis cuantitativo preliminar se aprecia una tendencia que permitió agrupar a los ejemplares en dos categorías: adultos y juveniles. Los adultos presentan folículos de 1 a 8 y los juveniles de 1 a 5a (figuras 22C, 22D y 22E). Agrupación que coincide con el análisis estadístico (Anexo E) de los pesos corporal y gonadal así como el índice gonadosomático, que muestra diferencias significativas entre las dos categorías. Por tanto, la descripción anatómica macroscópica y tisular de los diferentes órganos del aparato reproductor se elaboró a partir de esta categorización.

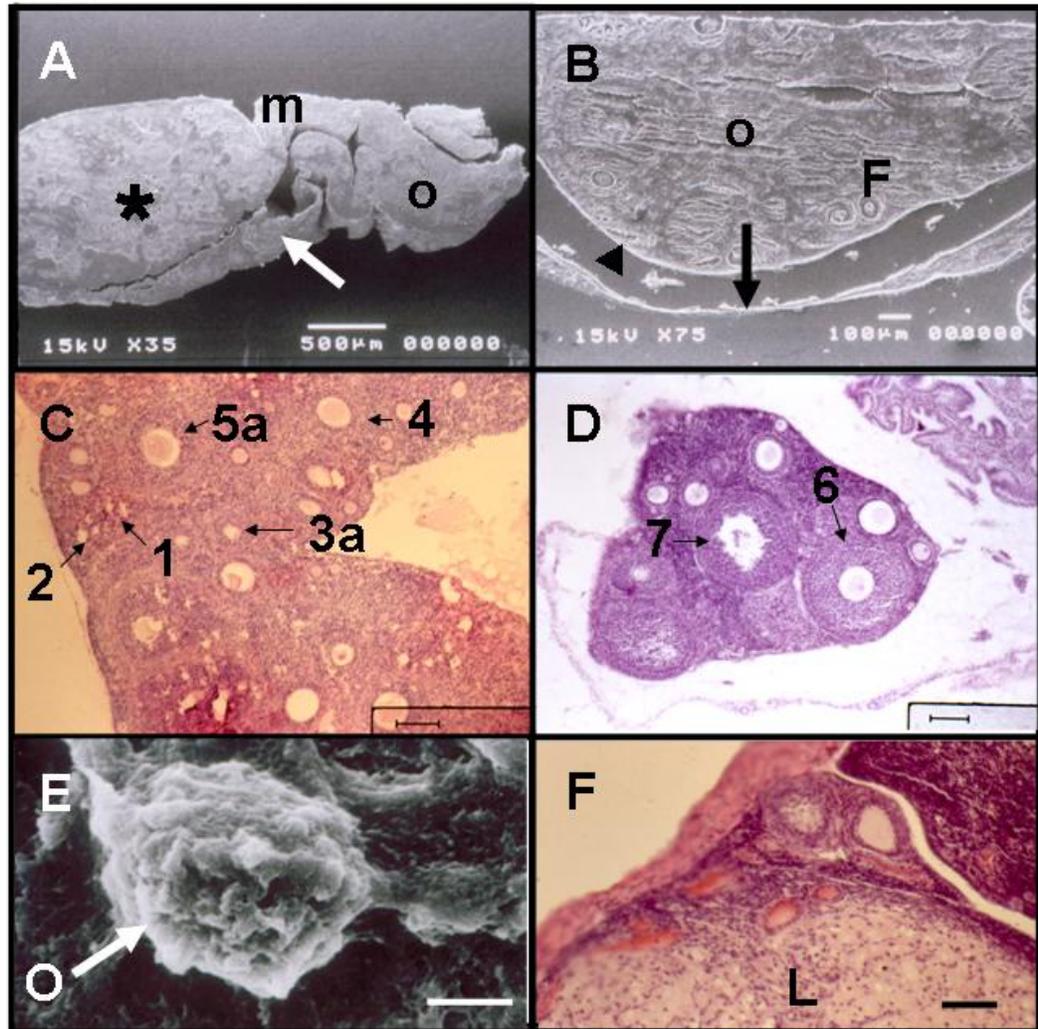


Fig. 22 Fotomicrografías y electromicrografías de ovario de *Peromyscus winkelmanni* en corte sagital. **A.** Electromicrografía de barrido: ovario (*), mesovario (m), oviductos (o) y peritoneo visceral (→) (barra=500 μ m). **B.** Electromicrografía de barrido: ovario (o), epitelio de recubrimiento (▲), peritoneo visceral (→) y folículos primordiales (F) (barra=100 μ m). **C.** Fotomicrografía de ovario en el que se aprecian diferentes tipos de folículos en desarrollo de acuerdo a Pedersen y Peters (1968): 1, 2, 3a, 4 y 5a (barra=100 μ m). **D.** Fotomicrografía de ovario en el que se aprecian folículos tipo 6 y 7 (Pedersen y Peters, 1968) (barra=100 μ m). **E.** Electromicrografía de barrido que muestra a un ovocito rodeado por corona radiada (O) en un folículo tipo 7 (Pedersen y Peters, 1968) (barra=5 μ m). **F.** Fotomicrografía de ovario con cuerpo luteo (L) (H-E, barra=50 μ m).

6.3.2.2 Oviductos

La pared de estos conductos muestra una mucosa, una capa muscular delgada y una serosa claramente definida. No fue posible observar una capa submucosa. Se observaron segmentos claramente definidos por los pliegues de la mucosa, así como por el espesor de la pared. La zona proximal al ovario y que corresponde al infundíbulo presentó pliegues de gran tamaño y con ramificaciones, por lo que dan un aspecto laberíntico. La región media que correspondería a la ampolla mostró menor número de pliegues, y de base amplia, así como una pared delgada. La región distal, con respecto al ovario, que correspondería al istmo muestra una luz irregular con ligeros pliegues y una pared gruesa. En las tres regiones se observaron dos tipos de células: ciliadas y secretoras (figura 23).

6.3.2.3 Cuernos uterinos

Los cuernos uterinos presentaron una pared constituida de la luz hacia el exterior por varias capas: 1) epitelio simple cilíndrico con núcleos ovoides y eucromáticos (con una altura promedio de $8.6 \pm 0.56 \mu\text{m}$). 2) delgada capa de tejido conectivo, con abundantes fibras de colágena. 3) Una capa con tejido conectivo laxo areolar, vascularizada y con glándulas de tipo tubular simple de 56 a 90 μm . y de secreción, fundamentalmente, serosa. 4) capa con tejido conectivo denso irregular. 5) capa de tejido muscular liso, y que por su disposición se encuentra dividida en dos regiones: circular interna y longitudinal externa. 6) capa de tejido conectivo laxo con vasos de gran calibre. Se observó una glandularización y vascularización relacionada con el peso y el índice gonadosomático (figura 24).

En corte histológico de la región pigmentada que se mencionó en la sección 6.3.1.3 se considera que el material encontrado puede ser resultado de una reabsorción embrionaria (figura 25D).

El útero es doble lo cual se demuestra con cortes de la región cercana al cervix, en la que se aprecia el tabique divisorio de la luz uterina (figura 25A).

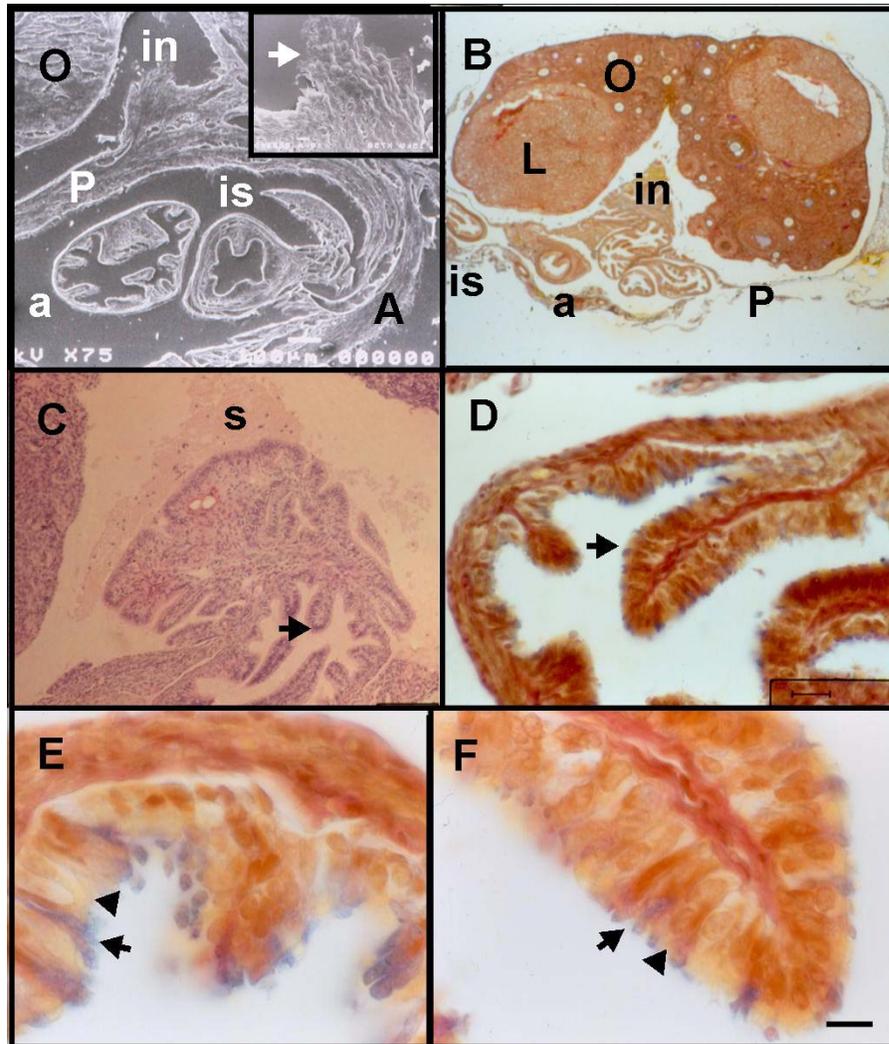


Fig. 23. Secciones sagitales de diferentes zonas de los oviductos de *Peromyscus winkelmanni*. **A.** Electromicrografía en la que se aprecia el infundíbulo (**in**), el istmo (**is**), ámpula (**a**), peritoneo (**P**), ovario (**O**) (Barra=100 μ m) Recuadro con células ciliadas (\rightarrow) (barra=10 μ m) **B.** fotomicrografía en la que se aprecian infundíbulo (**in**), el istmo (**is**), ámpula (**a**), peritoneo (**P**), ovario (**O**), Cuerpo luteo (**L**) (azul de alciano, Barra=400 μ m). **C.** Fotomicrografía de pliegues infundibulares (\rightarrow) y secreción (**S**) (H-E, Barra=100 μ m). **D.** Fotomicrografía de pliegues infundibulares con células secretoras (\rightarrow) (azul de alciano, Barra=25 μ m). **E.** fotomicrografía de pliegues del istmo con células secretoras (\rightarrow) y ciliadas (\blacktriangle) (azul de alciano, Barra=10 μ m). **F.** fotomicrografía de pliegues ampulares con células secretoras (\rightarrow) y sin secreción (\blacktriangle) (azul de alciano, Barra=10 μ m).

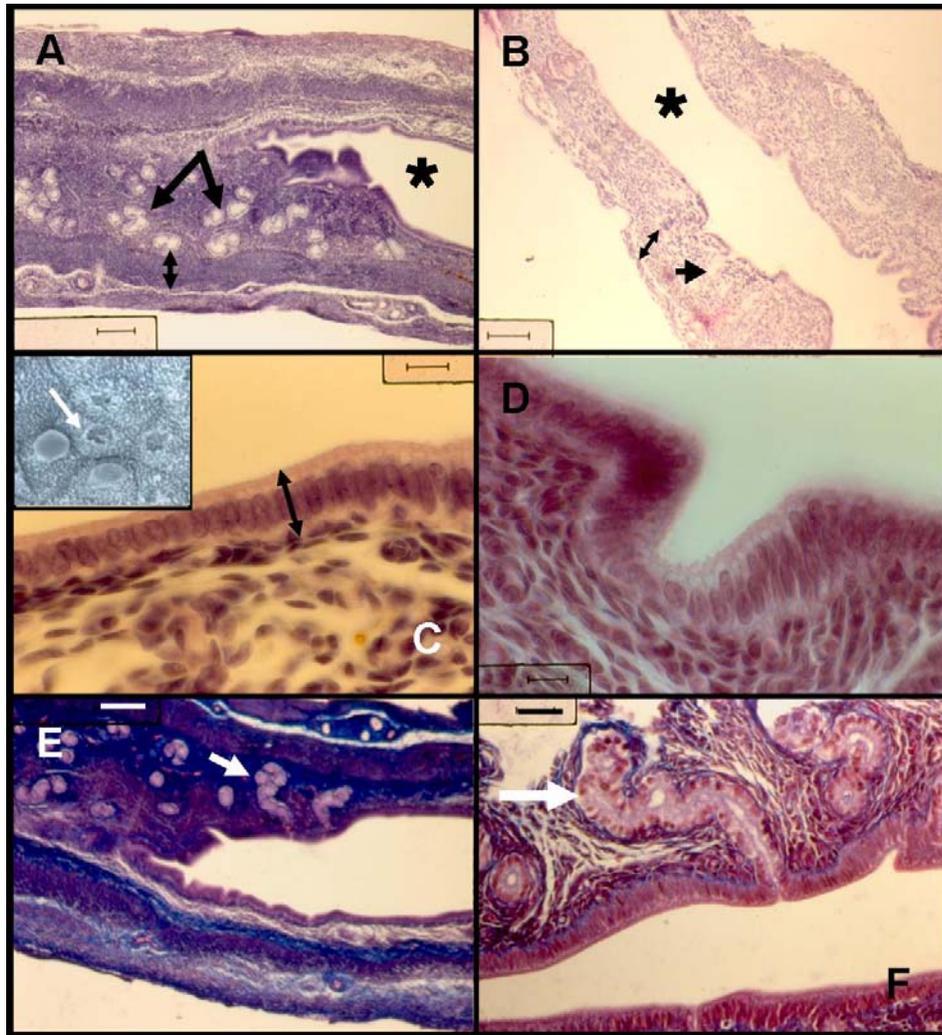


Fig. 24. fotomicrografías y electromicrografías de útero de *Peromyscus winkelmanni* en cortes longitudinales y tangencial. **A.** fotomicrografía de útero de ejemplar adulto, note la gran glandularización (➤), así como el espesor del miometrio (↔); lumen (✱) (H-E, Barra=400 μ m). **B.** Fotomicrografía de útero de ejemplar inactivo, note la escasa glandularización y el espesor del miometrio (↔); lumen (✱) (H-E, Barra=400 μ m). **C.** Fotomicrografía del epitelio cilíndrico simple endometrial (↔) de ejemplar adulto (H-E, Barra=25 μ m) Recuadro con electromicrografía de barrido que muestra la superficie apical del epitelio, note la intensa secreción (➤) (barra=5 μ m). **D.** fotomicrografía de glándula intramural de endometrio activo (H-E, Barra=400 μ m). **E.** Fotomicrografía de pared uterina con glándulas tubulares (➤) (Masson, Barra=100 μ m). **F.** Fotomicrografía de pared uterina con glándulas tubulares compuestas (➤) (Masson, Barra=50 μ m).

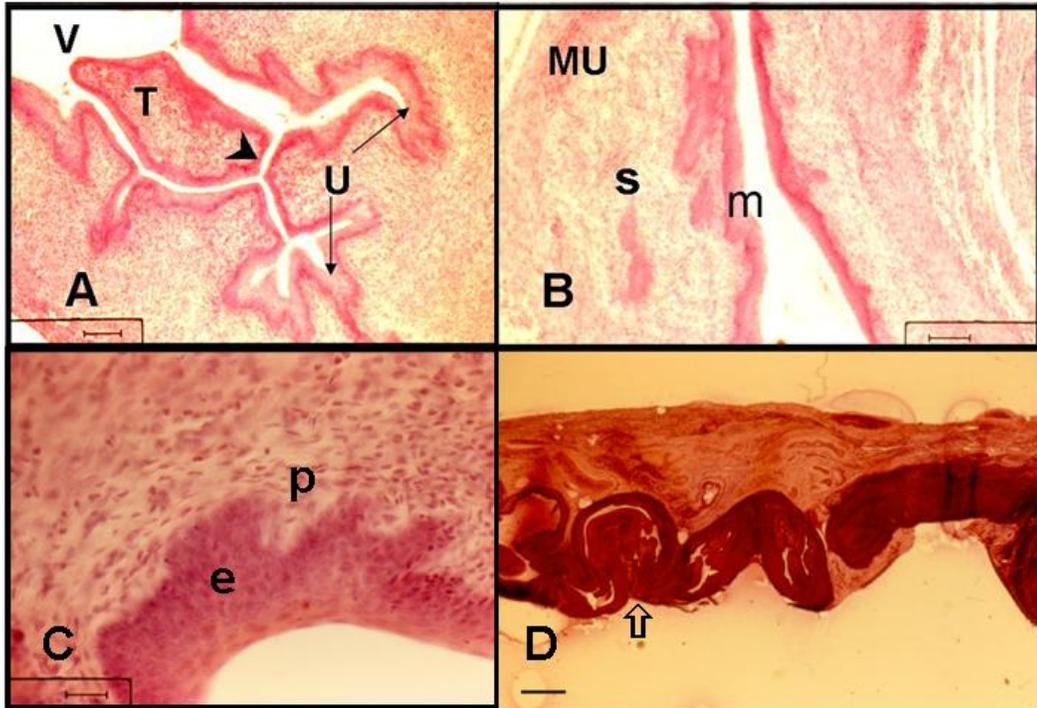


Fig. 25 **A.** Cervix en donde se localiza el tabique (**T**) que divide al útero doble. Cuerno uterino (**U**), región vaginal (**V**) (H-E, Barra=100 μ m). **B.** Vagina en la que se define la mucosa (**m**), submucosa (**s**) y muscular (**MU**). (H-E, Barra=100 μ m). **C.** Epitelio estratificado aplanado no queratinizado de vagina (**e**), papila (**p**) (H-E, barra= 50 μ m). **D.** Útero con reabsorción embrionaria (\uparrow) (H-E, barra= 100 μ m).

6.3.2.4 Cervix

El epitelio de revestimiento de esta región es estratificado aplanado, apoyado en tejido conectivo laxo. La glandularización es escasa y la presencia de tejido muscular está representada por células de músculo liso individuales.

6.3.2.5 Vagina

La vagina en toda su extensión mostró un revestimiento de tejido epitelial estratificado aplanado no queratinizado (con una altura de 23 a 54 μm), el cual presentó regiones papilares sobre el tejido conectivo laxo areolar, así como algunos pliegues. En este tejido conectivo se presentó vascularización por capilares en la región cercana al epitelio, en tanto que en la más alejada de éste, la vascularización es por vasos del tipo de las arteriolas y vénulas. La siguiente es una capa delgada que mostró tejido muscular liso con una orientación circular interna y longitudinal externa. Estas capas conforman una organización con una mucosa, una submucosa y una muscular (figuras 24B y 24C).

En resumen el aparato reproductor femenino adulto de *Peromyscus winkelmanni* presenta una anatomía macroscópica y microscópica (tisular y celular) general típica de roedores.

6.4 Introducción al Bioterio.

6.4.1 Primera colecta

Los ejemplares que ingresaron al bioterio fueron:

5 hembras y 5 machos, que se identifican con las siguientes siglas:

Machos:

R, L, S, E y C

Hembras:

A, C, P, T y M

Pesos (110297) en gramos.

Machos

Hembras

| R | L | S | E | C | | A | C | P | T | M |
|------|------|------|------|------|--|------|------|------|-------|------|
| 37.9 | 49.8 | 37.4 | 45.8 | 54.2 | | 39,7 | 54,2 | 33,2 | 31.44 | 31,5 |

4.2.1.2 Posición Testicular

| R | L | S | E | C |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Abdominal | abdominal | abdominal | abdominal | abdominal |

4.2.1.3 Vagina y glándula mamaria.

| A | C | P | T | M |
|---|---|---|---|---|
| X | X | X | X | X |

x = Sin abertura vaginal y

Glándulas mamarias inconspicuas.

6.4.2 Segunda colecta

Los ejemplares colectados el 14 de junio fallecieron durante su transportación al D.F. Los cadáveres fueron empleados para la realización del estudio anatómico.

Al procesarlos para el estudio anatómico, el sexado corresponde a 2 machos y 2 hembras. A estas últimas se les tomó frotis vaginal (fijado en portaobjetos con Cytospray), ya que presentaban la vagina abierta. Los frotis posteriormente fueron teñidos con la técnica de Papanicolau. Las glándulas mamarias mostraban poco desarrollo. Los machos mostraban testículos escrotados. (Datos concentrados en la tabla de ejemplares procesados).

6.4.3 Tercera colecta.

Se colectó un solo ejemplar hembra que murió en el periodo de cuarentena después de que se le aplicó el desparasitante.

Esta hembra mostró la vagina abierta, por lo que se tomó frotis. Las glándulas

mamarias mostraban poco desarrollo.

6.4.4 Cuarta colecta

Ingresaron al bioterio cuatro ejemplares, una hembra y tres machos.

Pesos (120298) en gramos.

Machos

Hembra

| M | B | E | | F |
|------|------|------|--|------|
| 23.3 | 24.7 | 26.0 | | 27.3 |

Posición Testicular

| M | B | E |
|-----------|-----------|-----------|
| Abdominal | Abdominal | abdominal |

Vagina y glándula mamaria.

| |
|---|
| M |
| X |

x = Sin abertura vaginal y

Glándulas mamarias inconspicuas.

6.5 Citología Vaginal y Ciclo Estral

6.5.1 Tipos celulares

De los 186 frotis obtenidos se caracterizaron los diferentes tipos celulares observados: leucocitos, células superficiales (acidófilas y basófilas), intermedias (basófilas) y basales (acidófilas y basófilas). A continuación se describen sus características estructurales generales.

6.5.1.1 Superficiales

6.5.1.1.1 Acidófilas

De forma irregular (factor de forma=0.83). El diámetro mayor va de 15.5 a 30.4

μm . El citoplasma se tiñe de anaranjado y el núcleo es pequeño y picnótico (relación núcleo/citoplasma=0.0004).

6.5.1.1.2 Basófilas

De forma irregular (factor de forma=0.82). El diámetro mayor va de 13 a 34.5 μm . El citoplasma se tiñe de azul-verdoso, con núcleo picnótico (relación núcleo/citoplasma=0.0006).

6.5.1.2 Intermedias

6.5.1.2.1 Basófilas

Tienden a una forma esférica (factor de forma=0.88). El diámetro mayor va de 17.2 a 23.2 μm . Citoplasma azul-verdoso, núcleo esférico con una delicada red heterocromática (relación núcleo/citoplasma=0.02).

6.5.1.3 Basales

6.5.1.3.1 Acidófilas

De forma esférica (factor de forma=0.93). El diámetro mayor va de 13.9 a 23.3 μm . Citoplasma anaranjado y núcleo con heterocromatina granular dispersa (relación núcleo/citoplasma=0.17).

6.5.1.3.2 Basófilas

De forma esférica (factor de forma=0.92). El diámetro mayor va de 12.9-14.1 μm . Citoplasma azul-verdoso. Núcleo con heterocromatina granular dispersa (relación núcleo/citoplasma=0.19).

Los tipos celulares observados y descritos definen a las etapas de diestro, proestro, estro y metaestro (figura 26).

Los resultados de los 186 frotis (de tres ejemplares) se analizaron estadísticamente de manera que resultaron ciclos en un intervalo de tres a ocho días. Presentándose en mayor porcentaje (36.7) el ciclo de seis días (Figura 26).

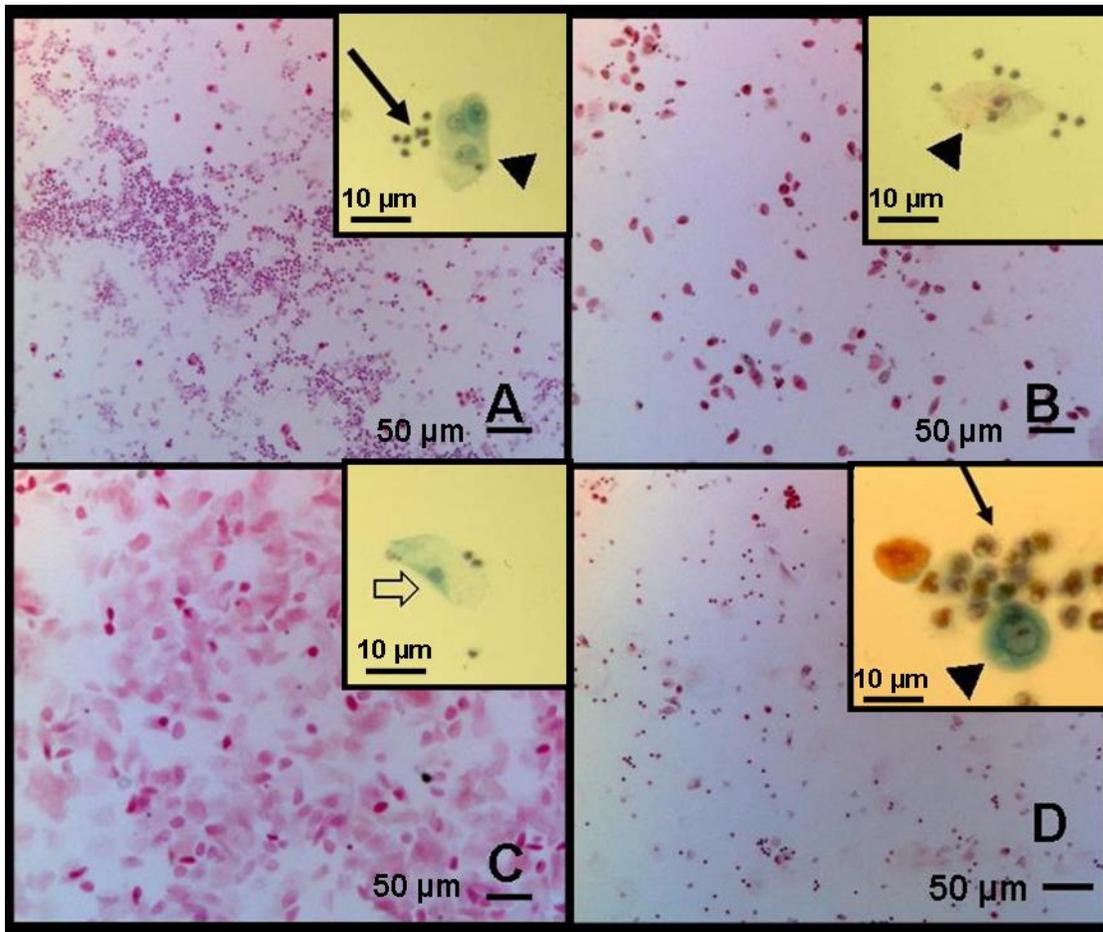


Fig. 26. Fotomicrografías de frotis vaginales de *Peromyscus winkelmanni* (Papanicolau, Barra= 50 µm) Leucocitos (➔), células basales (▲) y células cornificadas (⇨): **A.** Diestro, **B.** Proestro **C.** Estro **D.** Metaestro (Papanicolau)

6.6 Conducta

Algunas de las posturas y conductas individuales y en grupo de *P. winkelmanni* se presentan en la figura 28.

Los datos registrados sobre la actividad de *Peromyscus winkelmanni* concentrados en una matriz descrita en la sección de materiales y métodos se presenta en su totalidad en la sección de apéndices. Al revisar los datos se observa un comportamiento diferenciado por periodos de cuatro horas, lo que se aprecia en la figura 29

Se aprecia que en las primeras cuatro horas de oscuridad predominan las posturas propias del descanso; no así en las cuatro horas siguientes en las que la mayoría de los ejemplares se encontraban en actividad. En las cuatro últimas horas de oscuridad la mayor parte de los ejemplares se encuentran nuevamente con posturas propias de descanso. El análisis estadístico de estos datos muestra diferencias significativas entre las cuatro primeras horas, las cuatro horas centrales y las cuatro últimas horas del periodo de oscuridad (figura 29).

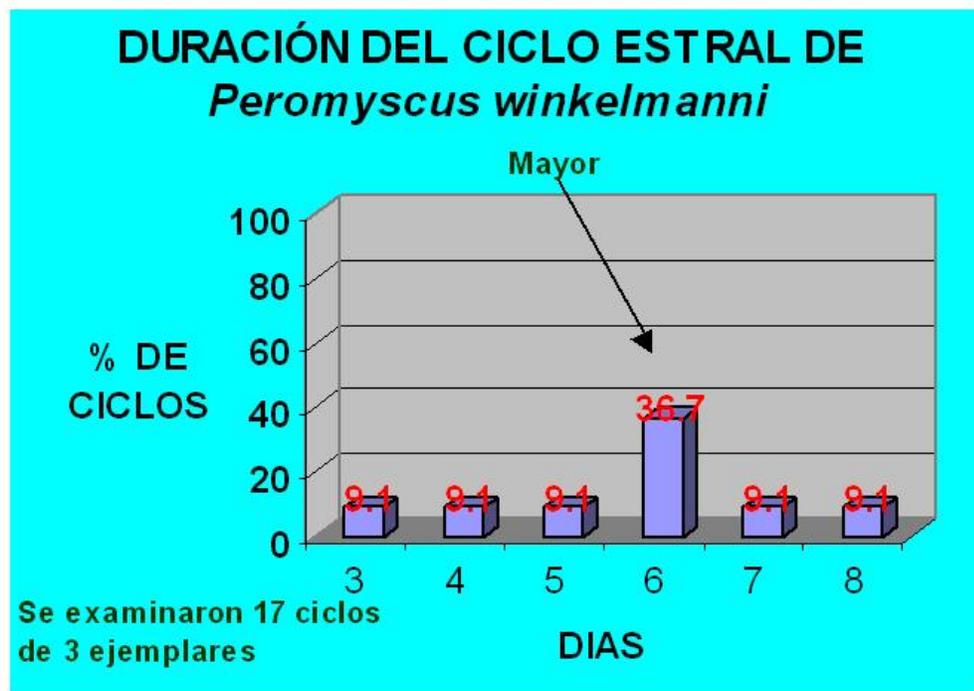


Fig. 27 Gráfica que muestra la duración del ciclo estral de *Peromyscus winkelmanni*, a partir de el registro de 17 ciclos de 3 ejemplares. Observese que 36.7 % de los ciclos presentó una duración de 6 días.

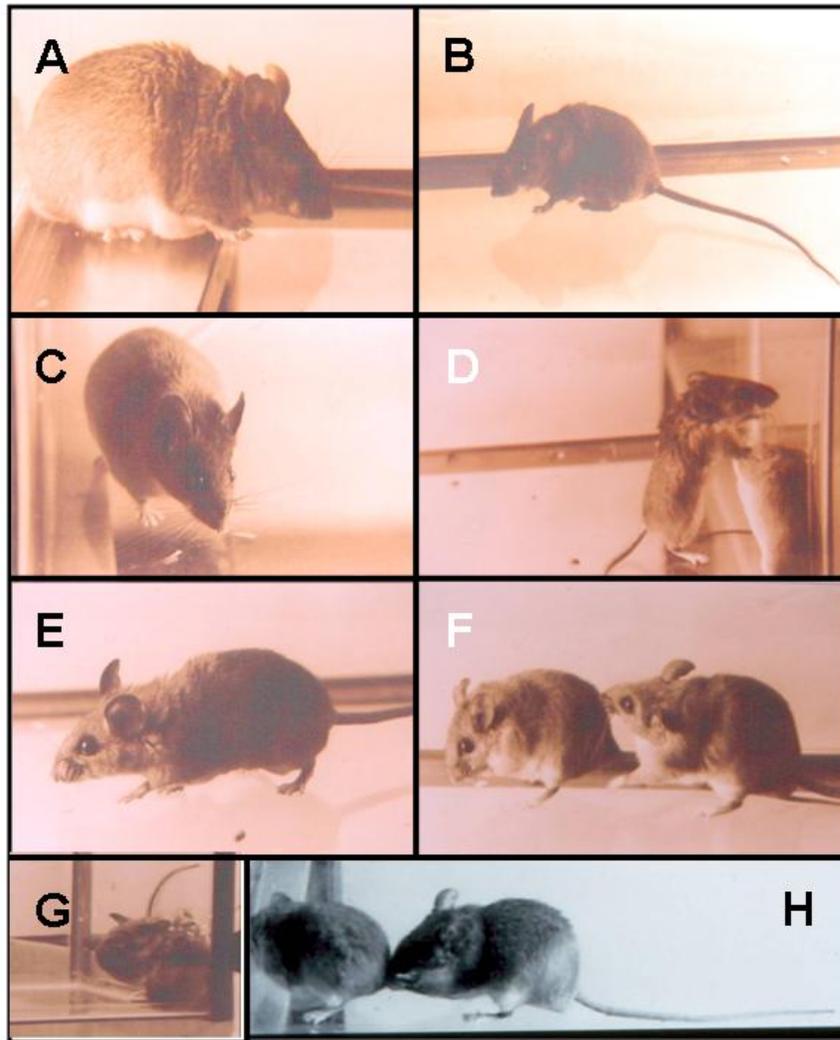


Fig. 28 Posturas y conductas típicas de *Peromyscus winkelmanni* **A.** reposo **B.** Actividad **C.** exploración **D.** boxeo **E.** actividad **F.** olisqueo **G.** intento de monta **H.** Olisqueo.

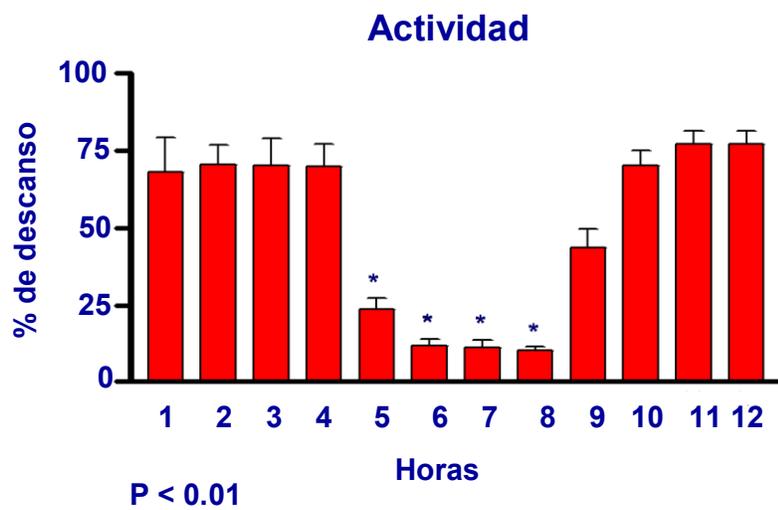


Fig. 29 Gráfica que muestra las etapas de actividad y descanso de ejemplares de *Peromyscus winkelmanni* (colectados en campo e introducidos a condiciones de cautiverio) durante el periodo de obscuridad (prueba de Tukey).

VII. DISCUSIÓN.

El conocimiento de los rasgos que conforman el patrón reproductor de *Peromyscus winkelmanni* se ha limitado a la descripción de la estructura peneana y al estado general del aparato reproductor de algunos de los ejemplares colectados (Carleton, 1977; Bradley y Schmidly, 1987). En el presente trabajo se presentan los primeros resultados sobre la anatomía macroscópica y microscópica general de los aparatos reproductores masculino y femenino de esta especie. Asimismo, se discuten algunos elementos sobresalientes de la biología tisular de los aparatos reproductores masculino y femenino de *P. winkelmanni*, en relación a su biología reproductora.

Los resultados del presente trabajo muestran que la anatomía macroscópica y microscópica de los aparatos reproductores masculino y femenino de *Peromyscus winkelmanni* es similar a la de las especies descritas de la familia Muridae. Asimismo, el ciclo estral, las posturas y movimientos que se observaron en los organismos en cautiverio resultaron similares a los descritos para otras especies del género *Peromyscus*. De la misma manera, los datos anteriores nos permiten estimar que el ciclo reproductor de *P. winkelmanni* es semejante al reportado para otras especies del género *Peromyscus*. Sin embargo, es importante destacar una serie de peculiaridades propias de la especie.

A continuación se discuten los datos que se plantearon como objetivos de esta tesis.

7.1 Trabajo de campo

Los porcentajes de captura muestran una variación importante según la época del año, ya que siempre fue significativamente mayor en febrero. El porcentaje promedio de captura de este mes fue 6.2 ± 2.08 %, en tanto para los meses de junio y julio en conjunto fue de 1.5 ± 0.7 %, mientras que para el mes de diciembre fue de 0.5 %. Por otro lado, se capturaron en total mayor número de hembras que de machos. Asimismo en ninguna de las colectas se capturaron hembras preñadas.

Los resultados indican que los ejemplares machos y hembras colectados en

febrero (de 1995, 1997 y 1998) son de edades adulta y juvenil, con tendencia a mayor número de juveniles en la colecta de febrero de 1998. Lo que sugiere cambios en el comportamiento de la población de *Peromyscus winkelmanni*. En primer lugar hace suponer que en el mes de febrero se encuentran hembras preñadas en la población, ya que de acuerdo a las observaciones de Layne (1968) las hembras en esta condición destetan a sus crías a una edad más temprana, a diferencia de las no preñadas en las que la lactancia se alarga en el tiempo. Las crías destetadas, para obtener su alimento, necesariamente saldrían de su guarida y corresponderían a los ejemplares juveniles colectados en el mes de febrero. En este mismo sentido, Millar (1989), reporta que varios son los factores que influyen en la edad a la que se independizan las camadas de especies de tamaño similar a *P. winkelmanni*, como son *P. maniculatus* y *P. leucopus*. Millar *et al.* (1990) corroboran la importancia del estado reproductor, condición nutricional y la disponibilidad de alimento en el comportamiento de poblaciones de *P. leucopus*. En la población de *P. winkelmanni* el estado nutricional dependiente del escaso alimento disponible durante febrero (fin del invierno), puede retrasar la maduración sexual de los ejemplares colectados.

El promedio de los porcentajes de captura del presente trabajo ($3.66 \pm 3.07 \%$) es ligeramente menor al 4.4% reportado por Alvarez *et al.* (1987). Asimismo, al comparar los porcentajes de captura obtenidos en este trabajo, en los diferentes meses del año, con los reportados por estos autores, también se encontraron diferencias. En las colectas efectuadas el mes de febrero, su promedio fue mayor (8.5% vs 4.4%) en contraste su promedio fue menor en junio/julio (1.5% vs 4.4%) y diciembre (0.5% vs 4.4%). Un aspecto común en las colectas efectuadas para este trabajo y las realizadas por Alvarez *et al.* (1987) y Carleton (1977) es que no se encontraron hembras preñadas. Este hecho hace suponer que éstas disminuyen su movilidad en esta condición. Como fue señalado por Hall y Morrison (1997), en *P. truei*, especie simpátrica de *P. winkelmanni*, en los que la movilidad de las hembras tiende a disminuir cuando se encuentran en estado de gravidez.

Es importante mencionar que el porcentaje de ejemplares adultos colectados en diferentes años, pero en el mismo mes, muestra una tendencia a la disminución

(tablas 2 y 5). Lo que podría explicarse, también, por el efecto combinado del clima y la presencia de contaminantes que se detectaron en mayor cantidad en la localidad de colecta (basura y desechos no reciclables). Estas condiciones, probablemente estén provocando cambios del periodo de reproducción y/o disminución de la fertilidad, como lo reportaron McCoy *et al.* (1995) para *Peromyscus polionotus*. Las variaciones en el estado reproductor pueden, a su vez, modificar la movilidad de la población, como muestran los estudios en *P. truei*, realizados por Scheiber y O'Farrell (1995).

Los registros de la variación mensual de temperatura e insolación, en la localidad de estudio, éstos muestran diferentes fluctuaciones. La insolación además de presentar poca variación, es propicia para la actividad reproductora, como se observó en *Peromyscus leucopus* (Young y Nelson, 2001).

Con respecto a la temperatura, mostró una marcada disminución entre diciembre y febrero, periodo en el cual se ha demostrado en *P. leucopus noveboracensis* y *P. maniculatus gracilis* que la reproducción disminuye, pero no desaparece (Pierse y Vogt, 1993). Es importante mencionar que estas especies presentan, durante el invierno, torpor, conducta de anidamiento y de almacenamiento de alimento, que favorecen la reproducción. Observaciones que apoyan nuestra idea de la existencia de ratas preñadas de *P. winkelmanni* en la época invernal.

La precipitación pluvial es el factor ambiental de mayor variación. Lo cual, si bien contribuye a que la disponibilidad de alimento aumente, cuando el nivel de precipitación es elevado, puede ser también un agente estresor importante que influya en la actividad reproductora (Hayssen, 1998).

En conjunto, los datos del trabajo de campo indican que la actividad reproductora es factible durante todo el año, pero factores como la precipitación pluvial y la temperatura pueden influir para que ésta disminuya durante ciertos periodos del año, fundamentalmente en los de mayor precipitación pluvial (de mayo a septiembre). Durante el invierno, a pesar de que la temperatura disminuye y con ello se reduce la disponibilidad de alimento, es posible que *Peromyscus winkelmanni* manifieste conductas que mantengan su actividad reproductora, como las

mencionadas en *Peromyscus leucopus noveborascensis* y *P. maniculatus gracilis* (Pierse y Vogt, 1993).

7.2 Aparato reproductor masculino

Como en el caso de *Peromyscus leucopus* (Linzey y Layne, 1969), la anatomía macroscópica del tracto genital de *P. winkelmanni* es básicamente similar a la de *Mus musculus*. Sin embargo, es importante señalar que en la mayoría de los roedores, el testículo alcanza el 1% o un poco más del peso corporal (Setchell *et al.*, 1994), en tanto que los ejemplares de *P. winkelmanni* estudiados muestran un porcentaje menor.

El índice gonadosomático puede relacionarse con la capacidad reproductora de una especie. Un dato de campo que puede relacionarse con la capacidad reproductora de una especie silvestre es la presencia de hembras preñadas en las colectas. En este sentido, el índice gonadosomático de *P. winkelmanni* es consistente con la aparente baja capacidad reproductora de la especie, pues como ya se mencionó en la sección anterior no se colectaron hembras preñadas (Carleton, 1977, Alvarez *et al.*, 1987 y García y López, 1997). En contraste, otros roedores silvestres, como *Sigmodon sp.*, con mayores índices gonadosomáticos sí presentan hembras preñadas durante las colectas (Alvarez *et al.*, 1987). Desde luego que la captura se ve afectada por diferentes factores y no solo por la capacidad reproductora.

Al correlacionar los pesos corporal, gonadal e índice gonadosomático con el índice de madurez y presencia de espermatozoides en el epidídimo, notamos que los tres primeros parámetros no son suficientes para determinar el estado reproductor de un ejemplar macho. Como prueba de ésto se encontró un ejemplar con valores mayores de pesos e índice gonadosomático y estado reproductor inactivo, comparado con otro con valores menores de pesos e índice gonadosomático cuyo estado reproductor es activo (41.4 g; 0.22 ± 0.01 g; 0.53 VS 40.5 g; 0.16 ± 0.02 g; 0.39).

Datos similares han sido reportados para otros roedores silvestres como

Peromyscus leucopus y *Sigmodon sp.*, en los que individuos con peso corporal en el rango de edad adulta, poseen testículos con peso en el rango de edad juvenil. En estas especies el testículo presenta un ritmo de recrudescencia, actividad, regresión e inactividad, lo cual propicia que el órgano sufra cambios en su peso, no acordes al peso corporal (Young y Nelson, 2001; Setchell y Breed, 2006). Estas variaciones en el peso del testículo determinan una reproducción de tipo estacional (Setchell y Breed, 2006).

Por otro lado, el análisis histológico de los testículos del ejemplar con valores altos de peso e índice gonadosomático y estado reproductor inactivo, mostró túbulos seminíferos sin espermatozoides y con asociaciones celulares únicamente con espermatogonias y espermatoцитos, así como la luz del túbulo amplia, ésta última similar a la de un individuo adulto. Características que difieren de las reportadas por Kerr *et al.* (2006) para *P. leucopus* en etapas juveniles y de las que presentan individuos jóvenes de *P. winkelmanni*. Estos resultados junto con la relación taxonómica de *P. winkelmanni* con *P. leucopus* y *Sigmodon* (este último roedor simpátrico a *P. winkelmanni*) permiten concluir que la condición reproductora de dicho ejemplar en realidad corresponde a una etapa de regresión similar, similar a lo reportado en *P. leucopus* y *Sigmodon* (Young *et al.*, 2000).

La orientación y disposición de las regiones anatómicas macroscópicas del epidídimo de *Peromyscus winkelmanni* son similares a las descritas en rata (Reid y Cleland, 1957; Hamilton, 1975). La inserción craneal de los conductos eferentes en rata (Hamilton, 1975), ratón (Abe *et al.*, 1983) y hamster (Flickinger *et al.*, 1978), determina que los conductos sean relativamente cortos. En contraste, la inserción casi ecuatorial en *P. winkelmanni*, da como resultado que los conductos eferentes sean más largos. La lobulación parece depender de la variabilidad de los ejemplares y no de un patrón característico de la especie, lo que coincide con lo propuesto por Reid y Cleland (1957) así como Hamilton (1975) para la rata.

El patrón de vascularización del epidídimo observado en *P. winkelmanni* coincide con lo descrito por investigadores que examinaron al ratón (Abe *et al.*, 1984) y a la rata (Ohtsuka, 1984). En todos ellos, la arteria testicular se ramifica para irrigar

al *caput*, el *corpus* y la región proximal de la *cauda* del epidídimo. La porción distal de la *cauda* y el conducto deferente son irrigados por una rama de la arteria ilíaca interna.

El número de los conductos eferentes observados en *P. winkelmanni* de 14 a 20, es mayor que lo reportado para rata (Gutroff *et al.*, 1992) y ratón (Cooper y Jackson, 1972), donde se observan de 2 a 9.

El conocimiento de la anatomía del tracto genital masculino de *Peromyscus winkelmanni*, en particular de las glándulas accesorias, proporciona información importante para entender el patrón reproductor de esta especie, así como para analizar sus relaciones filogenéticas con otras especies del género *Peromyscus*. Al comparar las dimensiones de los órganos del aparato reproductor masculino encontradas en este estudio, con lo que se conoce en especies cercanas a *P. winkelmanni*, se nota una tendencia a ser mayores que en *P. oaxacensis*, excepto el testículo, la uretra y la glándula vesicular que muestran similitud con *P. pectoralis* y *P. leucopus* (Linzey y Layne, 1969). En el caso de *P. gossypinus* son claramente diferentes (Arata, 1964). Asimismo, la forma de las glándulas es similar a lo reportado para el grupo *boyllii*. Por ejemplo la forma de la glándula vesicular de *Peromyscus winkelmanni* es similar a la de *P. boyllii*, en tanto que presenta diferencias con *P. oaxacensis*. Este hecho apoya la relación filogenética de *P. winkelmanni* con el grupo *boyllii*. Sin embargo, es necesario realizar un estudio más detallado y con mayor número de ejemplares, sobre las otras glándulas accesorias del aparato reproductor masculino de *P. winkelmanni*.

7.2.1 Testículos

La estructura de la túnica albugínea difiere de la descrita en la rata por Setchell *et al* (1994) en cuanto que la túnica vascular es de menor dimensión. Las células musculares que se encontraron deben corresponder a los llamados miofibroblastos de la rata, que se caracterizan por tener núcleos menos vesiculosos que los de las células de músculo liso. La presencia de tres arterias a nivel de la túnica vascular, es de gran importancia para la regulación del flujo sanguíneo de la

cápsula. En este sentido es relevante la presencia de mastocitos en esta zona, que también han sido reportados en humanos (Nistal *et al.*, 1984) y en hamster (Frungeri *et al.*, 1999). A los mastocitos se les confiere un papel importante en el control de la irrigación del testículo, así como posibles moduladores locales de la actividad de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis durante la transición, regresión-reanudación de la actividad reproductora en los ciclos reproductores estacionales dependientes del fotoperiodo.

El espacio intersticial en la rata y el ratón presenta células secretoras de hormonas, denominadas de Leydig y un número considerable de mastocitos y macrófagos (Christensen *et al.*, 1985). En el caso de *P. winkelmanni* se demostró la presencia de mastocitos, pero no de macrófagos. Los mastocitos se han ligado funcionalmente a las células de Leydig, ya que en estudios con células de hamster “in vitro” se halló que estimulan la esteroidogénesis. En concordancia con estos resultados se ha descrito que los mastocitos participan en la recuperación de la actividad testicular en experimentos de daño testicular temprano en rata (Kerr *et al.*, 2006). Con base en estos hallazgos se sugiere que los mastocitos observados en *P. winkelmanni* intervengan en la recrudescencia testicular.

En *P. winkelmanni* al igual que en la rata las células de Leydig forman grupos rodeados parcialmente por células endoteliales viscerales, lo que determina que las células de Leydig estén directamente expuestas a la linfa (Setchell *et al.*, 1994 y Fawcett *et al.*, 1970). En esta arquitectura intertubular las células de Leydig en *P. winkelmanni* no siempre ocupan una posición perivascular, sino que ocupan zonas peritubulares o regiones centrales del espacio intersticial. En los individuos inmaduros no se apreció con claridad la organización del espacio intersticial típica de los ejemplares maduros o en regresión. Esta situación sugiere que la organización del espacio intersticial se va configurando durante las etapas del desarrollo ontogenético juvenil. El hecho de que en los individuos inactivos la organización del tejido intersticial se mantiene, a pesar de que los niveles de testosterona deben estar disminuyendo drásticamente (Sinha y Swerdloff, 1999) permite sospechar que dicha organización no depende de los niveles de testosterona.

Por su parte Kretser y Kerr (1994) consideran que la organización del espacio intersticial permite que las células de Leydig mantengan mayor contacto con la circulación, asegurando una mayor eficiencia en la regulación hormonal.

La organización de los túbulos seminíferos de rata, ratón y hamster se caracteriza por la presencia de una variedad de tipos celulares, que en conjunto constituyen al epitelio seminífero (Kretser y Kerr, 1994). Estos tipos celulares pertenecen a dos estirpes bien definidas: células somáticas (células de Sertoli) y células germinales (células espermatogénicas). De esta manera, los diferentes tipos celulares descritos en los túbulos seminíferos corresponden a diferentes estadios de diferenciación de las células germinales. La dinámica de la espermatogénesis depende del ciclo del epitelio seminífero que se establece mediante el análisis de las diferentes asociaciones celulares, también denominadas estadios del ciclo (Austin y Short, 1982).

El ciclo del epitelio seminífero de *P. winkelmanni* consta de 6 estadios que representa 3 estadios menos que en otros roedores silvestres (Muñoz *et al.*, 1998), 8 menos que la rata (Clermont y Harvey, 1965), 6 menos que en el ratón, 7 menos que en el hamster y los mismos que en el hombre (Austin y Short, 1982). Esta diferencia puede deberse a que fueron considerados solo tres tipos de espermátidas (tempranas, intermedias y avanzadas) y que en cada tipo se pueden presentar subtipos como sucede en otras especies (Austin y Short, 1982).

Los seis estadios descritos en este trabajo pueden observarse claramente, aunque el número total de estadios puede aumentar si se emplea una técnica que ponga en evidencia los cambios estructurales de la espermiogénesis con mayor detalle como sería la técnica de PAS, o el uso de cortes semifinos teñidos con azul de toluidina y cortes ultrafinos analizados con microscopía electrónica, como lo señalan Muñoz *et al.* (1998), en su trabajo con *Lagostomus maximus maximus* y/o la técnica de disección óptica empleada por Kerr *et al.* (2006), en el análisis de la espermatogénesis en el hombre.

Russell *et al.* (1990) consideran que el ciclo del epitelio seminífero es especie específico. Asimismo, Franca *et al.* (1998) y Timmons *et al.* (2002) demuestran que

la expresión génica de las células germinales y las células de Sertoli determinan la duración del ciclo. Por estas razones, la determinación del ciclo del epitelio seminífero es importante, ya que puede emplearse en estudios taxonómicos. Por ejemplo, al conocer el ciclo del epitelio seminífero de *P. winkelmanni* y de otras especies del género se pueden establecer relaciones de parentesco.

Por otro lado, el conocimiento de las variaciones del ciclo del epitelio seminífero en *P. winkelmanni*, permite entender los procesos de regresión y recrudescencia testicular que han sido estudiados en otras especies como *Peromyscus leucopus* (Young y Nelson, 2001), en la que se ha demostrado que la apoptosis está involucrada en la regresión testicular, desencadenada por modificaciones del ciclo de luz-obscuridad a través de regulación neuroendocrina. De este modo, las asociaciones atípicas en el epitelio seminífero que se encontraron en algunos ejemplares de *P. winkelmanni*, pueden considerarse adultos inactivos por no tener una espermatogénesis completa, lo que podría ser resultado de procesos apoptóticos desencadenados por factores ambientales.

A partir de los datos que aquí se reportan se considera que *Peromyscus winkelmanni* tiene una red testicular de tipo cavitario profundo que corre en dirección axial una cierta distancia hacia el interior de la porción media del testículo, tal como lo reportaron Caviccia y Burgos (1977) en hamster y Beu *et al.* (1998) en *Cavia porcellus*.

7.2.2 Epidídimos

En este estudio se demuestra que el epidídimo de *P. winkelmanni* comprende siete zonas morfológicamente distintas. Las características que las diferencian son: altura del epitelio de revestimiento, longitud de los estereocilios, área luminal, diámetro mayor, índice espermático, variación en los tipos celulares, diferencias regionales en su distribución y características citológicas distintivas de las células principales. La zonación del conducto epididimario, también ha sido reportada en conejos (Nicander, 1957a), toro y carnero (Nicander, 1957b), rata (Reid y Cleland, 1957; Hamilton, 1975), ratón (Allen y Slater, 1961), hamster (Nicander y Glover,

1973), topo (Suzuki y Racey, 1976), cuyo (Hoffer y Greenberg, 1978), echidna (Djakiew y Jones, 1982), marsupiales dasiuridos (Taggart y Temple-Smith, 1989), humanos (Yeung *et al.*, 1991) y chimpances (Smithwick y Young, 1997).

La tabla 3 presenta las tendencias observadas en el análisis estadístico de la compartimentalización morfofuncional del epidídimo de *P. winkelmanni*. La diversidad de las características morfológicas de los conductos epididimarios sugiere diferente actividad entre las regiones anatómicas.

La relación entre la altura del epitelio epididimario de *P. winkelmanni* y la región anatómica no coincide con el patrón observado en la rata (Hamilton, 1975), el hamster (Flickinger *et al.*, 1978), el cerdo (Briz, *et al.*, 1993) y el humano (Yeung *et al.*, 1991), donde la altura de las células epiteliales disminuye del *caput* a la *cauda*. Sin embargo, nuestras observaciones coinciden con la tendencia decreciente de la longitud de los estereocilios del *caput* a la *cauda*. Esto mismo se presenta cuando se relaciona la altura de las células epiteliales con el índice espermático: el epitelio de menor altura con el mayor índice espermático. Por otro lado, Taggart y Temple-Smith (1989) en un marsupial dasiurido (*Antechinus stuartii*) encontraron, como en este estudio, que la altura de las células epiteliales no disminuyen del *caput* a la *cauda*. Sin embargo, estos autores no encuentran la misma relación entre la altura de las células epiteliales con el índice espermático que se observó en este estudio.

A pesar de la clara compartimentalización, en las diferentes regiones anatómicas (*caput*, *corpus* y *cauda*), el análisis estadístico de las características morfométricas sugiere aspectos interesantes ya reportados (Lorenzana *et al.*, 2007). El diámetro mayor y el área luminal de la zona I del *caput* fue significativamente diferente al de las otras zonas, lo cual se puede explicar por el hecho de que la zona I es la continuación de los conductos eferentes. Esto coincide con los hallazgos reportados por Hamilton (1975) en la rata. Es importante notar que algunas semejanzas fueron observadas entre zonas de varias regiones: 1) las zonas V (*caput*) y VII (*cauda*) no presentan diferencias significativas en la longitud de los estereocilios y muestran un alto índice espermático; 2) la longitud de los estereocilios de la zona IV (*caput*) es similar a la de la zona VI (*corpus*). Glover y Nicander (1971)

mencionan que esta situación se presenta en mamíferos como el hamster, la rata, el cerdo de guinea y el conejo. Los datos anteriores demuestran que las regiones anatómicas (*caput*, *corpus* y *cauda*) presentan zonas con diferentes funciones.

El epidídimo de *P. winkelmanni* presenta cuatro tipos de células: principales, basales, apicales y claras. Lo cual coincide con los reportes en otros mamíferos como rata (Reid y Cleland, 1957; Hamilton, 1975), ratón (Abe *et al.*, 1983), hamster (Flickinger *et al.*, 1978) y perro (Schimming y Vicentini, 2001). Estos autores observan una tendencia en la distribución de los tipos celulares: 1) las células principales y basales están presentes en las tres regiones; 2) las células apicales se encuentran solamente en el segmento inicial del *caput*, y 3) las células claras se observan solo en la región de la *cauda*. En el caso de *Peromyscus winkelmanni*, sin embargo, se observaron algunas diferencias: 1) las células apicales no se encuentran solo en el segmento inicial, como lo describen Goyal y Williams (1991) en relación con el epidídimo de la cabra, así como Goyal (1985) en el epidídimo de los bovinos. Estas células se presentan, también, en la zona III del *caput*; 2) las células claras son escasas. Es interesante mencionar que estos autores no observaron células claras.

Otros tipos celulares, como las células con halo (Reid y Cleland, 1957; Hamilton, 1975; Goyal, 1985; Goyal y Williams, 1991; Palacios *et al.*, 1993); células delgadas (Briz *et al.*, 1993), y células oscuras (Viotto *et al.*, 1996), no se observaron en el epidídimo de *P. winkelmanni*.

Por otro lado, los estudios ultraestructurales realizados por algunos autores (Hamilton, 1975; Goyal y Williams, 1991; Arrighi *et al.*, 1993; Viotto *et al.*, 1996; Copper, 1999; Schimming y Vicentini, 2001) demuestran que el aparato de Golgi, el retículo endoplásmico rugoso y estructuras submicroscópicas como las vacuolas, vesículas y cuerpos multivesiculares, son los organelos citoplasmáticos más desarrollados en las células principales epididimarias. Estas observaciones sugieren que las células principales participan en la secreción (merocrina, apocrina y holocrina) y los procesos de reabsorción.

Las células basales presentan mitocondrias y escasas cisternas de retículo

endoplásmico rugoso (Briz *et al.*, 1993). Estas células presentan gotas de lípidos (Goyal y Williams, 1991). Por otro lado, Cooper (1999), en un trabajo de revisión sobre epidídimo, señala la presencia de apolipoproteína E (involucrada en el transporte de esteroides), lo que sugiere la capacidad de reciclar lípidos. En tanto que la expresión de altos niveles de glutatión S-transferasa y superóxido dismutasa, implican, posiblemente, a las células basales en un proceso de detoxificación. Este autor menciona que en la reproducción estacional o en ciertas condiciones experimentales, en las cuales se presenta degeneración de los espermatozoides o del epitelio epididimario, las células basales pueden presentar actividad fagocítica.

Las células apicales tienen bordes luminales en forma de domo, los cuales no presentan estereocilios (Goyal y Williams, 1991). Estas células presentan escaso citoplasma; el aparato de Golgi tiene algunas cisternas libres en forma laminar, y las mitocondrias son menos homogéneas en forma y de mayor tamaño que en las células principales (Hamilton, 1975). Ya que las células apicales perdieron sus características endocíticas (microvellosidades, vesículas pinocíticas y microvesículas) pueden no estar involucradas en actividades secretoras o de absorción. Sin embargo, como estas células tienen actividad de anhidrasa carbónica (Goyal *et al.*, 1980), pueden jugar un papel importante en la acidificación del plasma epididimario (Cooper, 1999). Estas células presentan un perfil de expresión proteica diferente al de las células principales (Robaire *et al.*, 2006).

Las células claras presentan un citoplasma perinuclear vacuolado, contienen escasas mitocondrias esféricas y algunos gránulos de secreción. El aparato de Golgi es bastante pequeño (Hamilton, 1975, Briz *et al.*, 1993). Estas células no presentan verdaderas microvellosidades y muestran ondulaciones y pliegues, que son capaces de englobar pequeñas partículas. De acuerdo con Cooper (1999) las células claras pueden estar involucradas en la endocitosis de las gotas citoplasmáticas de los espermatozoides.

Estos hallazgos se consideraron para interpretar morfofisiológicamente las observaciones del presente estudio. Las características morfológicas observadas en las células principales de las zonas I, II, III y IV del *caput* (epitelio columnar, vesículas

citoplásmicas supranucleares y longitud de los estereocilios) corresponden a células con funciones de absorción y secreción. En contraste, las características de las células principales presentes en la zona V corresponden a células que realizan funciones de absorción y almacenamiento espermático. Los hallazgos morfológicos e histoquímicos de las células en las zonas del *caput* sugieren variaciones locales en la actividad metabólica. Asimismo las observaciones en las electromicrografías de barrido confirman esta idea, ya que las células en la zona V pierden las vesículas secretoras, y muestran estereocilios cortos y delgados, en tanto que, las células en las zonas I, II, III y IV muestran una gran cantidad de diferentes tipos de vesículas secretoras, así como estereocilios largos y gruesos; Asimismo se notó en las zonas I a la IV un bajo índice espermático. Estas observaciones sugieren que los espermatozoides las recorren rápidamente. El hecho de que secreciones abundantes están presentes en estas zonas, sugiere actividad de absorción, lo cual lleva a concluir que los procesos de maduración de los espermatozoides, también, se llevan a cabo. Con base en sus características citológicas e histoquímicas la zona V, puede ser considerada como una zona de almacenamiento temporal.

Reportes sobre sementales de carneros y toros, así como en conejos (Nicander 1957a, b), humanos (Martan *et al.*, 1964) y cerdos (Briz *et al.* 1993) muestran diferencias regionales en las características citoquímicas de los conductos epididimarios. A partir de análisis ultraestructurales en los mismos mamíferos (Jones *et al.* 1979; Goyal 1985; Yeung *et al.* 1991; Briz *et al.* 1993) estas características citoquímicas son atribuidas a las diferentes clases de actividad secretora del epitelio epididimario.

Consideramos que el cuerpo de los conductos epididimarios (zona VI) en *P winkelmanni* presenta una función de conducción y maduramiento de los espermatozoides. Esta función es, aparentemente, diferente a la desarrollada por las zonas I, II, III y IV, ya que presenta un epitelio de menor altura, que significa menor actividad secretora. Los resultados en estas zonas del epidídimo están de acuerdo con esta idea, porque se encontró un decremento en el material secretado y un incremento en el índice espermático, así como la presencia de células principales y

basales.

Los conductos epididimarios en la zona VII (*cauda*) son peculiares ya que su morfofisiología refleja características distintivas. La altura del epitelio denota diferentes tipos de actividad, lo cual se confirma por el tipo de material de secreción que se observa en las electromicrografías de barrido. El incremento en la altura del epitelio y la presencia de células claras sugiere actividad secretora y endocítica. Se observó un incremento significativo en el diámetro de los conductos, lo cual resulta en un incremento del área luminal. También se encontró que el índice espermático se incrementa considerablemente, en comparación con otras zonas, aunque los estereocilios disminuyen su tamaño. Se considera que, aunque estas características corresponden a un epitelio secretor, es distinto al de las zonas de secreción del *caput* en tres aspectos: 1) una diferente composición de la secreción demostrada por las diferentes afinidades tintoreas; 2) los capilares intraepiteliales no se presentan en la *cauda* y 3) los estereocilios cortos y el diámetro mayor de los conductos, lo cual ofrece condiciones favorables para el almacenamiento y maduración de los espermatozoides.

En *Peromyscus winkelmanni* las vesículas secretoras se pueden observar en diferente cantidad y tipo en los tres segmentos epididimarios. Estamos de acuerdo con Fornés *et al.* (1995) quienes mencionan que los tipos de vesículas con diámetro de 1.5 a 3.0 μm tienen un papel importante en la maduración de los espermatozoides debido a la presencia de glicosidasas, las cuales juegan un papel importante al cubrir la superficie espermática con macromoléculas tales como glucoproteínas.

Los tejidos que rodean el epitelio de revestimiento del epidídimo de *P. winkelmanni*, presentan un patrón similar al descrito en otros mamíferos (Hamilton, 1975; Ramos y Dym, 1977; Hoffer y Greenberg, 1978; Goyal y Williams, 1991; Briz *et al.*, 1993; Smithwick y Young, 1997; Schimming y Vicentini, 2001). Aquí se encontró que el *caput* del epidídimo de *P. winkelmanni* presenta capilares en la capa muscular y cerca del epitelio. Estos se encuentran localizados de manera paralela al eje longitudinal del conducto, entre el epitelio y los tejidos conectivo y muscular subepiteliales. Estos capilares podrían formar una red cilíndrica subepitelial que

corresponde a los capilares peritubulares descritos por Setchell *et al.* (1994) en la rata. En *P. winkelmanni* algunos de estos capilares de la zona III del *caput* parecen penetrar directamente al epitelio de revestimiento, desde el tejido conectivo subyacente, constituyendo capilares intraepiteliales. Este tipo de vascularización presente en el *caput* epididimario de *P. winkelmanni* indica una fuerte actividad biológica de las células epiteliales, ya que estos vasos proporcionan una amplia y directa vía para la llegada de testosterona que proviene del testículo (Setchell *et al.*, 1994), a través de la irrigación que llega a esta región epididimaria.

Se debe enfatizar que los capilares intraepiteliales representan un hallazgo importante en roedores, ya que Ramos y Dym (1977) los consideran exclusivos del epidídimo de primates. Ellos pensaron que este tipo de vasos sanguíneos no se encontraban en otros mamíferos. A partir de observaciones con microscopía electrónica de transmisión, estos autores demuestran que la lámina basal del epitelio se encuentra entre el endotelio de los capilares intraepiteliales y la célula epitelial. Por tanto, concluyeron que los vasos sanguíneos no se encuentran entre el dominio lateral de las células epiteliales, sino que ocupan una posición que se proyecta de manera profunda en la lámina basal del epitelio. En el caso de los capilares intraepiteliales del epidídimo de *P. winkelmanni*, deben llevarse a cabo estudios similares para definir el tipo de relación entre el epitelio epididimario y los vasos sanguíneos.

A pesar del hecho de que los epidídimos de primates y de *P. winkelmanni* presentan estos capilares, existen diferencias importantes entre ellos: 1) en primates los vasos se encuentran en la *cauda*, en tanto que en *P. winkelmanni* se localizan en el *caput*, 2) el epitelio de los primates es de mayor espesor que el de *P. winkelmanni*.

Aquí se concluye que la presencia de estos capilares en el epitelio del *caput* del epidídimo de *P. winkelmanni* representan una contribución a dos actividades: 1) la mayor actividad de síntesis y secreción del epitelio epididimario, creada por la demanda de metabolitos en esta región, y 2) al control de la secreción epididimaria porque los andrógenos testiculares son transportados por conexiones vasculares desde el testículo hacia el *caput* y el *corpus* del epidídimo. Es por ello que los

capilares intraepiteliales no están presentes en la *cauda*, ya que la vascularización de esta región es independiente de la que se presenta en las otras dos regiones. En estudios en el toro Briz *et al.* (1993) encontraron que la irrigación de las regiones *caput* y *corpus* epididimarias es independiente de la que se presenta en la *cauda* como en el caso de *P. winkelmanni*.

Sobre la base de estas diferencias, es importante realizar estudios a lo largo del año, a fin de conocer el papel que juegan los capilares en la absorción de espermatozoides en periodos no reproductores. Asimismo, resulta conveniente relacionar la vascularización del epidídimo con los cambios testiculares dependientes de la estacionalidad reproductora, pues existen estudios realizados en la zorra (Joffre y Kormano, 1975) y el camello (Zayed *et al.*, 1995) que muestran cambios en la vascularización del epidídimo que coinciden con la estación reproductora. En tanto que, son pocas las investigaciones realizadas en los roedores sobre esta temática. Pyter *et al.* (2005) determinaron en *Peromyscus leucopus*; que durante la regresión testicular se expresan genes que inhiben la angiogenesis, mientras que en la recrudescencia testicular se expresan genes que la promueven. García *et al.* (2005) encontraron en *Peromyscus alstoni* capilares similares en el epidídimo.

Nicander y Glover (1973) sugieren con base en las diferencias morfológicas y la función a lo largo del conducto epididimario de mamíferos que se puede dividir en tres segmentos: el segmento inicial donde se lleva a cabo la maduración espermática, un segmento intermedio o medio donde los espermatozoides transitan al segmento final, en el que son almacenados. De acuerdo a nuestros hallazgos, estas generalizaciones se aplican al epidídimo de *P. winkelmanni*: la zona I corresponde al segmento inicial, las zonas II a la VI corresponden al segmento medio y la zona VII corresponde al segmento final.

El epidídimo de *P. winkelmanni* muestra características morfológicas que sugieren actividad reproductora lo largo del año, ya que los ejemplares analizados muestran índices espermátogénicos de acuerdo a Grocock y Clarke (1973) que corresponden a producción de espermatozoides,. Por otro lado los datos de campo sugieren que *P. winkelmanni* podría ser un roedor de tipo estacional, controlado por

la hembra, como en otras especies de *Peromyscus* (Heideman y Bronson, 1992). En base a lo anterior se sugiere que la reproducción en *P. winkelmanni* está, probablemente, restringida a solo un periodo anual, el cual puede estar determinado por varios factores. Entre estos se pueden mencionar la disponibilidad de alimento, el fotoperiodo, la temperatura, y los factores sociales que favorecen la actividad sexual de la hembra, de manera similar a lo descrito en otras especies del género *Peromyscus* (Bronson y Heideman, 1994; Goodman, 1999). El epidídimo, sin embargo, debe tener mecanismos de regulación, que hagan eficiente el control de la maduración y el almacenamiento de los espermatozoides, en concordancia con las necesidades de la reproducción estacional tales como: un elevado índice espermático y mayor capacidad fecundante de los espermatozoides derivado de la actividad de su epitelio, tal como lo describe Aguilera-Merlo *et al.* (2005) para *Lagostomus maximus maximus*.

7.2.3 Conducto deferente y glándulas accesorias

El conducto deferente mostró una organización tisular similar a la descrita por Hamilton (1975) en la rata. Las glándulas accesorias en su organización histológica básica presentan las características típicas descritas por Linzey y Layne (1969) y Jesik *et al.* (1982).

7.2.4 Espermatozoides

Respecto a la estructura fina del espermatozoide se puede señalar que el material acrosomal de *P. winkelmanni* consta de cuatro zonas: gancho, puente de unión, apical y principal. A diferencia de los espermatozoides de otros mamíferos (Fawcett, 1975) no se distingue el segmento ecuatorial. Los espacios claros en la cromatina no suelen presentarse en todas las especies y se cree que pueden estar relacionados con deficiencias que ocurren al azar en el proceso de condensación de la cromatina.

Al comparar el espermatozoide del hombre, *Cavia porcellus*, rata, conejo y ratón (Fawcett, 1975; Eddy y O'Brien, 1994) con el espermatozoide de *P.*

winkelmanni se notan semejanzas y diferencias. En los casos mencionados la membrana de la región postacrosómica presenta el anillo posterior. Este anillo parece ser análogo a una unión estrecha (Flechon, 1974). En tanto que el espermatozoide de *P. winkelmanni* carece de lámina densa, la cual se considera estructura de protección (Eddy, 2006). Sin embargo, la función tanto del anillo como la lámina deberá verificarse en futuras investigaciones (Eddy, 2006).

El espermatozoide de *P. winkelmanni* por la morfología de su cabeza se ubica en el grupo cuatro propuesto por Gould *et al.* (1975). Sin embargo, en cuanto a su longitud total se ubica en el grupo 1. Al comparar las dimensiones de la cabeza y la cola del espermatozoide de *P. winkelmanni* (4.5 a 5.2; 30.4 a 45.2 μm) con las descritas por Linzey y Layne (1965) para el género *Peromyscus*, en general, (4.2-5.4; 54.9-69.3 μm) y por Villalpando *et al.* (2000) para *Peromyscus alstoni* (6.8; 89.6 μm), se nota que ambos son menores. No obstante la principal variación se da en la longitud de la cola que de acuerdo a Houillon (1988) implica una menor velocidad de desplazamiento.

La longitud de la cabeza del espermatozoide es menor a la que presentan especies del grupo *boylli* al que pertenece *P. winkelmanni*. La forma de la cabeza tiene similitud con la especie *lepturus*, del subgénero *Habromys* (Linzey y Layne, 1965). Estos hechos cuestionan la ubicación taxonómica de *P. winkelmanni* o bien muestran que la longitud y la forma de la cabeza del espermatozoide no son confiables para establecer relaciones filogenéticas como lo señalan Cummins y Woodall (1985).

En relación a la forma de la cabeza y acrosoma *P. winkelmanni* se ubica entre los mamíferos con espermatozoides asimétricos (Phillips y Dryden, 1991). El gancho falciforme presente en *P. winkelmanni* parece característico del género (Linzey y Layne, 1965; Villalpando *et al.*, 2000). El cuello presenta una estructura que corresponde al patrón básico de la mayoría de los mamíferos. En este sentido es importante señalar que la presencia de mitocondrias cerca de la pieza de conexión sugiere un mecanismo de locomoción dependiente de la actividad impulsora y de apoyo de la región del cuello (Fawcett, 1975).

El análisis cualitativo de los espermatozoides de *P. winkelmanni* mostró pocos con gota citoplásmica, lo que hace pensar que los espermatozoides en esta especie maduran en forma acelerada, de tal manera que al abandonar el epidídimo están lo suficientemente maduros para llevar a cabo la fertilización. Estos resultados junto con las observaciones de campo apoyan la idea de que *P. winkelmanni* tiene una reproducción de tipo estacional.

El carácter asimétrico de las fibras densas externas en el espermatozoide de *P. winkelmanni* puede estar relacionado con un carácter propio del género, ya que Villalpando *et al.* (2000) lo reportan en *P. alstoni* como una característica no descrita en los espermatozoides de otros grupos de mamíferos.

La relación entre las columnas de la vaina fibrosa y los filamentos densos externos del flagelo del espermatozoide de *P. winkelmanni* difiere de otras especies de mamíferos, mientras que la orientación de éstas con el eje dorso-ventral y el par central del axonema corresponden al patrón básico. Si bien se desconoce el plano en el que se da el curvamiento de la cola del espermatozoide de *P. winkelmanni* durante el proceso de locomoción, la relación en la disposición de los elementos de la pieza principal sugiere una locomoción que pudiera ser diferente al común de los mamíferos (Eddy y O'Brien, 1994).

La organización de la pieza terminal parece no ser diferente de la que se presentan en otros grupos.

En síntesis, la ultraestructura del espermatozoide de *P. winkelmanni* es similar, en las características básicas a las de otros roedores (Fawcett, 1975). No obstante, presenta características particulares en cuanto a la disposición de las mitocondrias, forma y disposición de las fibras densas externas de la pieza media y principal, así como a la conformación del acrosoma.

7.3 Aparato reproductor femenino

Las diferencias encontradas en la anatomía del aparato reproductor femenino de *P. winkelmanni* con la rata y el ratón (Mossman, 1966) son fundamentalmente en la disposición más cefálica de los cuernos uterinos. Como una consecuencia natural

esta característica se acompaña de cuernos uterinos de mayor longitud y una vagina de mayor tamaño. Este hallazgo es consistente con la longitud del pene, la cual es mayor que en otras especies del grupo *boyllii* (Carleton, 1977). Por otro lado la organización tisular de: ovario, oviductos, útero y vagina es similar a la descrita en rata y ratón (Mossman, 1973). La organización tisular de los ovarios, oviductos y útero muestran en general un estado funcional de actividad reproductora, dependiente del peso corporal. Dicho estado está caracterizado por desarrollo folicular, glandularización, vascularización y actividad secretora, de acuerdo a lo planteado por Rajkovic *et al.* (2006).

7.3.1 Citología Vaginal

La citología vaginal se emplea en diferentes especies de mamíferos como un método de diagnóstico de enfermedades vaginales, uterinas, o bien para determinar etapas del ciclo estral o preñez (De Buen *et al.*, 2001). Como se ha mencionado la regulación del ciclo estral está determinada por una red compleja de eventos que interactúan de manera rítmica, que funcionan para asegurar la reproducción (Bronson, 1985).

La definición de las fases del ciclo estral, en este estudio, fue importante ya que proporcionó un índice de la actividad reproductora de *P winkelmanni*.

Los tipos celulares encontrados en los frotis vaginales obtenidos de *P. winkelmanni* son, similares a los reportados para la rata (Yener *et al.*, 2007), sin embargo, se presenta un tipo celular que no se reporta cuando se tiñen las células con la técnica de Papanicolau (Lynch *et al.*, 1977) y que es la intermedia basófila. Sus implicaciones fisiológicas son desconocidas.

Los resultados sobre la citología vaginal de *P. winkelmanni* muestran una duración del ciclo estral con una longitud promedio mayor al de rata (Yener *et al.*, 2007), *P. eremicus* (Dewsbury *et al.*, 1976; Veal y Caire, 1979), *P. gossypinus* (Dewsbury *et al.*, 1976; Wolfe y Linzey, 1977), *P. alstoni* (Olivera *et al.*, 1986); similar al de *P. leucopus* (Dewsbury *et al.*, 1976; Aelden *et al.*, 1985), en tanto que menor a *P. californicus* y *P. crinitus* (Dewsbury *et al.*, 1976).

Por la duración el ciclo estral de *P. winkelmanni*, corresponde al Tipo III, según Conaway (1971). Sin embargo dada la dificultad para su reproducción en cautiverio no se puede afirmar que la ovulación sea espontánea y que presenten pseudopreñez inducida.

Durante los 31 días en los que se tomaron los frotis vaginales las hembras presentaron 17 ciclos por lo que consideramos que *P. winkelmanni* es poliéstrico.

Es importante en trabajos futuros establecer la relación entre la citología vaginal con el estado histológico del ovario, así como los perfiles hormonales correspondientes.

7.3.2 Conducta

El periodo de mayor actividad de *Peromyscus winkelmanni* en cautiverio, sugiere que es una especie de hábitos totalmente nocturnos, *P. winkelmanni* presenta patrones de posturas y movimientos característicos, en animales aislados, del género *Peromyscus* de acuerdo a lo descrito por Eisenberg (1968).

En los patrones de movimientos sociales las hembras pueden asumir actividad masculina, probablemente para inducir en machos inexpertos la conducta de apareamiento.

VIII. CONCLUSIONES

La anatomía macroscópica y microscópica de los aparatos reproductores masculino y femenino de *Peromyscus winkelmanni* muestra claras similitudes con roedores de la familia Muridae, no obstante presenta algunas características distintivas.

De manera general, las semejanzas y diferencias anatómicas, histológicas y ultraestructurales constituyen un argumento más a favor de considerar a algunos de estos rasgos morfológicos como caracteres taxonómicos.

Las diferencias anatómicas probablemente representen zonas de control de la maduración y capacitación de los espermatozoides, tal como se ha planteado en otros mamíferos.

Las diferentes asociaciones celulares del ciclo del epitelio seminífero se pueden atribuir a estados de regresión y reactivación testicular propios de la reproducción de tipo estacional.

La regionalización tisular y celular encontrada en el epidídimo sugiere una estrategia reproductora adicional que regula la maduración de los espermatozoides de manera estacional.

La variabilidad de las glándulas sexuales accesorias podría ser reflejo de diferencias individuales con respecto a su actividad reproductora.

La variabilidad en ovario, oviducto, útero y vagina representa los cambios propios de una reproducción estacional.

El ciclo estral de *P. winkelmanni* muestra un patrón similar a roedores del género *Peromyscus*.

Las posturas y movimientos de ejemplares en sueño, descanso, locomoción y cuidado de la superficie del cuerpo y movimientos de confort son similares a las reportadas para el género.

El hallazgo en el útero de reabsorción embrionaria evidencia una estrategia de estacionalidad reproductora.

Los rasgos morfológicos descritos en conjunto, en relación a datos de campo y de bioterio, sugieren que *P. winkelmanni* presenta un ciclo estacional, oportunístico y

poliéstrico.

IX. PROSPECTIVA

Los resultados que se presentan en el presente trabajo aportan información relevante sobre la biología reproductora del género *Peromyscus*, y en particular de la especie *winkelmanni*. Al mismo tiempo que esta información permite contestar algunas preguntas, genera, también, nuevas dudas en el conocimiento de la biología reproductiva del género y especie estudiados. A continuación se presentan algunas posibles líneas de investigación que sugiero a partir de esas interrogantes.

En cuanto al aparato reproductor masculino.

Sobre el testículo:

- Definir los procesos involucrados en el ciclo del epitelio seminífero durante las etapas de regresión y reanudación de la actividad testicular durante un ciclo reproductor.

Sobre el epidídimo:

- Describir ultraestructuralmente la relación de los vasos sanguíneos con el epitelio epididimario y determinar inmunohistoquímicamente la naturaleza de los vasos intraepiteliales.

- Describir las variaciones estacionales en la irrigación del epitelio epididimario

- Describir la maduración gamética en las diferentes zonas epididimarias.

- Estimar la relación de los leucocitos con las diferentes zonas epididimarias.

- Determinar la variación estacional del epitelio epididimario, en particular de las células apicales.

- Caracterizar la composición química de la secreción de las diferentes zonas del epidídimo.

- Determinar el desarrollo del epidídimo antes de la pubertad.

Sobre el espermatozoide:

- Profundizar en la estructura, composición química y función de las fibras densas externas del espermatozoide.

Sobre el conducto deferente y las glándulas sexuales accesorias:

- Describir su organización tisular durante un ciclo reproductor.

En cuanto al aparato reproductor femenino:

- Correlacionar tipo de folículos con la época del año.
- Determinar la organización tisular y citológica de la vagina en los diferentes estados reproductivos a lo largo de un ciclo anual.

Consideraciones finales.

- Contribuir a la determinación de las relaciones filogenéticas entre diferentes categorías taxonómicas a partir de la organización histológica del espacio intersticial testicular, la red testicular y del epitelio seminífero y epididimario, por la forma y dimensión de los espermatozoides así como por la conformación de su cromatina.

- Definir la regulación gonadotrópica y de la apoptosis en el epitelio seminífero, el espacio intersticial y el epidídimo durante la maduración, regresión, quiescencia y recrudescencia gonadal.

X. REFERENCIAS.

- Abe, K., H. Takano y T. Ito, 1983: Ultrastructure of the mouse epididymal duct with special reference to the regional differences of the principal cells. Arch. Histol. Jpn. **46**, 51-68.
- Abe, K., H. Takano y T. Ito, 1984: Microvasculature of the mouse epididymis, with special reference to fenestrated capillaries localized in the initial segment. Anat Rec **209**, 209-218
- Aelden Lackey, J., D.G. Huckaby, y B.G. Ormiston, 1985: *Peromyscus leucopus*. Mammalian Species. **247**, 1-10
- Aguilera-Merlo, C., E. Muñoz, S. Domínguez, L. Scardapane y R. Piezzi, 2005: Epididymis of Viscacha (*Lagostomus maximus maximus*): Morphological Changes during the Annual Reproductive Cycle. Anat. Rec. **282A**, 83-92
- Allen, J.M., y J.J. Slater, 1961: A cytochemical study of Golgi associated thiamine pyrophosphatase in the epididymis of the mouse. J. Histochem. Cytochem. **9**, 418-423.
- Alvarez, T., J. Arroyo-Cabrales y M. González Escamilla, 1987: Mamíferos (excepto Chiroptera) de la costa de Michoacán, México. An. Esc. Cienc. biol., Mex., **31**, 13-62
- Arata, A. 1964: The anatomy and taxonomic significance of male accesory reproductive glands of Muroid rodents. Bull. Flo. State Mus., Univ. Florida **9**, 1-42
- Arita, H. T. 1994: Riqueza de especies de la mastofauna de México. Pp.109-125. En: R. A. Medellín y G. Ceballos (editores). Avances en el estudio de los mamíferos de México. Asociación Mexicana de Mastozoología, México, D. F.
- Arita, H. T. y G. Ceballos, 1997: Los mamíferos de México: distribución y estado de conservación. Revista Mexicana de Mastozoología **2**, 33-71.
- Arrighi, S., M.G. Romanello y C. Domeneghini, 1993: Ultrastructure of epididymal epithelium in *Equus caballus*. Ann. Anat. **175**, 1-9
- Asdell, S. A. 1964: Patterns of mammalian reproduction. Cornell University Press. New York 670 pp.
- Atland, P.D. y B. Highman, 1968: Sex organ changes and breeding performance of male rats exposed to altitud: effect of exercise and physical training. J. Reprod Fertil. **15**,

215-222

- Austin, C.R. y R.V. Short, 1982. Células germinales y fertilización. La Prensa Médica Mexicana, México. 141 pp.
- Baillie, J. 1996. *Peromyscus winkelmanni*. In: IUCN 2007. 2007 IUCN Red List of Threatened Species.
- Barkalow, F.S. Jr. 1962: Latitude related to reproduction in the cotton tail rabbit. J. Wildlife Mgtm. **26**, 32-37
- Baverstock, P. y C.H.S. Watts, 1975: Water balance of small lactating rodents. I. Ad libitum water intakes and effects of water restriction on growth of young. Comp Biochem Physiol. **50**, 819-825
- Beu C.C.L., A. M. Orsi, E.A.Gregório, S.M.M. Matheus y N. A. Basso, 1998: A scanning electron microscopic study of the rete testis of the Guinea Pig. Acta Anat **162**, 194-198.
- Bishop, M.W. y A.Walton 1960: Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa. En Marshall's physiology of reproduction **I**, 877 pp.
- Blank, J. L. y D. A. Freeman, 1991: Differential reproductive response to short photoperiod in deer mice: role of melatonin. J. Comp. Physiol. **169**, 501-506.
- Blus, L.J. 1966: Relationship between litter size and latitude in the golden mouse. J. Mamm. **4**, 546-547
- Bozzola, J.J. y L.D. Russell, 1992: Electron Microscopy Principles and Techniques for Biologists. Jones and Bartlett Pu. Boston E.U.A. 542 pp.
- Bradley, R.D. y D.J. Schmidly, 1987: The glans penes and bacula in Latin American taxa of the *Peromyscus* Boylii group. J. Mamm. **68**, 595-617
- Breed, W.G. 1982: Morphological variation in the testes and accesory sex organs of Australian rodents in the genera *Pseudomys* and *Notomys*. J. Reprod. Fertil. **66**, 607-613
- Briz, M., S. Bonet y A. Fradera, 1993: A morphologic study of the ductus of the epididymis of *Sus domesticus*. J. Morphol. **215**, 183-193
- Bronson, F.H. 1985: Mammalian Reproduction: An ecological perspective. Biol. Reprod. **32**, 1-26

- Bronson, F.H. y P.D. Heideman, 1994: Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. In: The Physiology of Reproduction. 2nd ed. Raven Press, N.Y.
- Brown, J.H. y A.C. Gibson, 1983: Biogeography. Mosby, St. Louis (USA). 643 pp.
- Carleton, M.D. 1977: Interrelationships of populations of the *Peromyscus boylii* species group (Rodentia, Muridae) in western México. Occ. papers Mus. Zool., Univ. Michigan **675**, 1-47
- Carlson, L.L., A. Zimmermann y G.R. Lynch, 1989: Geographic differences for delay of sexual maturation in *Peromyscus leucopus*: Effects of photoperiod, pinealectomy, and melatonin. Biol. of Reprod **41**, 1004-1013,
- Carmon, J.L., F.B. Golley y R.G. Williams, 1963: An analysis of the growth and variability in *Peromyscus polionotus*. Growth, **27**, 247-254
- Caviccia , J.C, y M.H. Burgos, 1977: Tridimensional reconstruction and histology of the intratesticular seminal pathway in the hamster. Anat Rec **187**, 1-10
- Cevallos, G. y D. Navarro, 1991: Diversity and conservation of Mexican mammals. Pags. 167-198. En : Topics in Latin American Mammalogy: History, biodiversity, and education (M.A. Mares y D.J. Schmidly, eds.) Univ. Oklahoma Univ Press, Norman, Oklahoma. 468 pp.
- Christensen A.K., T.E. Komorowski, B. Wilson, y R.W. Stevens 1985: The distribution of serum albumin in the rat testis, studied by electron microscope immunocytochemistry on ultrathin sections. Endocrinology **116**:357-372.
- Clermont, Y. y S.C. Harvey, 1965: Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypofisectomized and hypofisectomized-hormone treated albino rats. Endocrinology. **76**, 80-89
- Conaway, C.H. 1971: Ecological adaptation and mammalian reproduction. Biol. Reprod. **4**, 239-247
- Cooper, E.R.A.. y H. Jackson, 1972: The vasa efferentia in the rat and mouse. J. Reprod. Fertil. **28**, 317-319.
- Cooper, T.G., 1999: Epididymis. In: Encyclopedia of Reproduction. E. Knobil and J.D. Neill, Eds.) Academic Press. New York Vol. **2**, 1-17
- Cowling K., R. J. Robbins, G. R. Halgh, S. K. Teed y W.D. Dawson. 1994: Coat color

- genetics of *Peromyscus*: IV. Variable white, a new dominant mutation in the deer mouse. *J. Hered.*, **85**, 48-52.
- Crew M. D., C.A. Douglass y K.A. Brorson. 1994: H-2T24 and Pema T24: orthologous expressed MHC class IB genes from mouse and *Peromyscus maniculatus*. *Immunogenetics* **39**, 412-417.
- Cummings, J. R. y S. H. Vessey, 1994: Agricultural influences on movement patterns of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Am. Midl. Nat.* **132**, 209-218.
- Cummins, J.M. y P.F. Woodall, 1985: On mammalian sperm dimensions. *J. Reprod. Fert.* **75**, 153-175
- Dark, J., P.G. Johnston, M. Healy, y I. Zucker, 1983: Latitude of origin influences photoperiodic control of reproduction of deer mice (*Peromyscus maniculatus*) *Biol. Reprod.* **28**, 213-220
- De Buen, N., G. Maldonado, L. Romero y B. Vanda 2001: Citología de mucosas. En: *Citología diagnóstica veterinaria. Manual Moderno*, Mexico, D.F. 19-38
- Defosse, D. L., R. C. Johnson B., J. Paster, F. E. DeWhirst, y G. J. Fraser. 1995: *Brevinema andersonii* gen. nov., sp. nov. and infections spirochetes isolated from the short tailed shrew (*Blarina brevicauda*) and the white footed mouse (*Peromyscus leucopus*). *Internat. J. Systematic Bacteriol.*, 45-78
- Desjardins, C. y M.J. López, 1980: Sensory and nonsensory modulation of testis function. En: Steinberger, A. y Steiberger, E., eds. *Testicular Development, Structure and Function*. New York: Raven Press: 381-388
- Desjardins, C., F.H. Bronson y J. Blank, 1986: Genetic selection for reproductive photoresponsiveness in deermice. *Nature* **322**, 172-173
- De Vries, G.J. y P.A. Boyle, 1998: Double duty for sex differences in the brain. *Behav Brain Res.* **92**, 205-213
- Dewsbury; D.A., D.Q. Estep y D.L. Lanier, 1976: Estrous cycles of nine Species of Muroid Rodents. *Jour. of Mammal.* **58**, 89-92
- Dewsbury, D.A., D.J. Baumgardner, R.L. Evans y D.G. Webster, 1980: Sexual dimorphism for body mass in 13 taxa of muroid rodents under laboratory conditions. *J. Mamm.*, **61**, 146-149

- Dewsbury, D.A. 1992: Body mass and size in female deer mice, *Peromyscus maniculatus*, as a function of time since breeding. J. Mammal. **73**, 794-796.
- Djakiew, D., y R.C. Jones, 1982: Stereological analysis of the epididymis of the echidna, *Tachyglossus aculeatus*, and Wistar Rat. Aust. J. Zool. **30**, 865-875
- Dunmire, W.W. 1960: An altitudinal survey of reproduction in *Peromyscus maniculatus*. Ecol. **41**, 174-182
- Earle, M. y D.M. Lavigne, 1990: Intraspecific variation in body size, metabolic rate, and reproduction of deer mice (*Peromyscus maniculatus*). Canadian Journal of Zoology **68**(2), 381-388
- Ebling, F.J.P., R.I. Wood y F.J. Karsch, 1990: Metabolic interfaces between growth and reproduction. III: Central mechanisms controlling pulsatile luteinizing hormone secretion in the nutritionally growth-limited female lamb. Endocrinol. **126**, 2719-2727
- Eddy, E.M. y D.A. O'Brien 1994: The spermatozoon En: Knobil E. y Neill D (eds.): The physiology of Reproduction. 2a ed. Raven press **1**, 29-78.
- Eddy, E.M. 2006: The spermatozoon. En: The Physiology of Reproduction. (Ed. J.D. Neill). 3a. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA vol **1**, 3-54
- Eisenberg, J.F. 1968: Behavior Patterns. En: Biology of *Peromyscus* (Rodentia). (ed. John A. King. American Society of Mammalogists, USA 451-495
- Fawcett, D.W., L.V. Leak, y P.M. Heidger, 1970: Electronic microscopic observations on the structural components of the blood- testis barrier. J. Reprod. Fertil. **10**, 105-119
- Fawcett, D.W. 1975: The mammalian spermatozoon. Dev. Biol. **44**, 394-436
- Flechon, J.E. 1974: Freeze fracturing of rabbit spermatozoa. J. Microsc **19**, 59-64
- Flickinger, C.J., S.S. Howard y H.F. Englis, 1978: Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster. Am J Anat **152**, 557-586.
- Forger, N.G. y I. Zucker, 1985: Photoperiodic regulation of reproductive development in male white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) born at different phases of the breeding season. J. Reprod. Fertil **73**, 271-278
- Fornés, M.W., A. Barbieri y J.C. Cavicchi, 1995: Morphological and enzymatic study of membrane bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. Andrologia **27**, 1-5.
- Franca, L.R., T.Ogawa, M.R. Avarbock, R.L. Brinster y Russell, L.D. 1998: Germ cell

genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol. Reprod.* **59**, 1371-1377

Frungieri, M.B.; S.I., Gonzalez-Calvar, M., Rubio, Ozu M.; L., Lustig, y R.S. Calandra, 1999: Serotonin in golden hamster testes: testicular levels, immunolocalization and role during sexual development and photoperiodic regression-recrudescence transition *Neuroendocrinol.* **69**, 299-308

Fuller, W.A. 1969: Changes in numbers of three species of small rodent near Great Slave Lake, N.W.T., Canada, 1964-1967, and their significance for general population theory. *Ann. Zool. Fennici*, **6**, 113-144

Galea L.A. M., M. Kavaliers, K. P. Ossenkopp, D. Innes y E. L. Hargreaves. 1994: Sexually dimorphic spatial learning varies seasonally in two populations of deer mice. *Brain Res.*, **635**, 18-26

García, L. M. y R. López W. 1997: Estado del aparato reproductor femenino de *Peromyscus winkelmanni* durante el invierno. Memorias del Congreso Nacional de Zoología. Guanajuato, México.

García, L. M., R. López W y G.H. Vázquez-Nin, 1998: Basic aspects of the fine structure of *Peromyscus winkelmanni* (Rodentia: Cricetidae). Memorias del International Congress on Electron Microscopy 14, Cancún, México.

García, L.M., M. R. Tarragó C. y M.C. Uribe-Aranzabal, 2005: Estudio histológico comparado del epidídimo de *Peromyscus alstoni* y *Peromyscus winkelmanni* (Rodentia: Muridae). Memorias de la XV Reunión Nacional de Morfología. Monterrey, N.L. México

Garman, S. L., A. F. O'Connell Jr., y J. H. Connery, 1994: Habitat use and distribution of the mice *Peromyscus leucopus* and *Peromyscus maniculatus* on Mount Desert Island. Maine. *Can. Field-Nat.*, **108**, 67-71

Getty, T. y E.A. Capaldi. 1994: Inheritance of rank requires inheritance of social environment. *Anim. Behav.* **48**, 181-195

Glazier, D. S. 1990a: Constraints on the offspring production efficiency of *Peromyscus* and other rodents. *Funct. Ecol.* **4**(2): 223-231

Glazier, D. S. 1990b: Reproductive efficiency and the timing of gestation and lactation in

rodents. Am. Nat. **135**(2): 269-277

Glover, T.D. y L. Nicander, 1971: Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. J. Reprod. Fert. **13**, 39-50

Goodman, R.L. 1999: Seasonal Reproduction, Mammals. In: Encyclopedia of Reproduction. E. Knobil and J.D. Neill, Eds.) Academic Press. New York Vol. **4**: 341-351

Gould, K.G., Martin, D.E. y E.S.E. Hafez, 1975: Mammalian spermatozoa. En: Scanning electron microscopic atlas of mammalian reproduction. (Hafez, E.S.E.) Springer-Verlag, New York. 42-57

Goyal, H.O., J. G. Ferguson, y F. Hrudka. 1980: Histochemical activity of carbonic anhydrase in testicular and excurrent ducts of immature, mature intact and androgen-deprived bulls. Biol. Reprod. **22**, 991-997

Goyal, H.O. 1985: Morphology of the bovine epididymis. Am. J. Anat. **172**, 155-172

Goyal, H. O., y C.S. Williams, 1991: Regional differences in the morphology of the goat epididymis: a light microscope and ultrastructural study. Am. J. Anat. **190**, 349-369

Gregory, D. A., Johnson D.L. y B.H. Thompson, 1993: The impact of bran baits treated with the insecticides cararyl, chlorpyrifos and dimethoate on the survivorship and reproductive success of non-target mouse populations. Agric. ecosyst. Environ. **45**, 95-103.

Grocock, C.A. y J.R. Clarke, 1973: Photoperiodic control of testis activity in the Vole *Microtus agrestis*. J. Reprod. Fert. **39**, 337-347

Gutroff, R.F., P.S. Cooke, y R.A. Hess, 1992: Blind ending tubules and branching paterterns of the rat ductuli efferentes. Anat Rec. **232**, 423-431.

Hall, R.E. 1981: "The Mammals of North America" John Wiley and sons N.Y. 149-253

Hall, L.S. y M.L. Morrison, 1997: Den and relocation site characteristics and home ranges of *Peromyscus truei* in the White Mountains of California. Great Basin Naturalist. **57**(2), 124-130

Hamilton D.W., 1975: Structure and function of the epithelium lining the ductuli efferents, ductus epididymidis and ductus deferens in the rat. In: Hamilton D. W. and Greep R. O., ed Handbook of physiology, vol V. Washington D. C.: American Physiological Society

- Hawkins, L. K. y J. A. Crandford, 1992: Long-term effects of intraespecific and interspecific cross-fostering on two species of *Peromyscus*. *J. Mammal.* **73**, 802-807.
- Hayssen, V., Tienhoven, A.V. y Tienhoven, A.V. 1993 *Asdell's Patterns of Mammalian Reproduction*. Cornell University Press. London. 1023 pp.
- Hayssen, V., S. Gunawardhana, y J. Meyer. 1994: The agouti coat-color locus may influence brain catecholamines: Regional differences in norepinephrine and dopamine in the brains of two color-morphs of deermice (*Peromyscus maniculatus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **107**, 51-55.
- Hayssen, V. 1998: Effect of transatlantic transport on reproduction of agouti and nonagouti deer mice, *Peromyscus maniculatus*. *Laboratory Animals.* **32** (1), 55-64.
- Heideman, P. D. y F. H. Bronson, 1992: A pseudoseasonal reproductive strategy in a tropical rodent, *Peromyscus nudipes*. *J. Reprod. Fertil.* **95**, 57-67.
- Heideman, P. D. y F. H. Bronson, 1993: Potential and realized reproduction in a tropical population of *Peromyscus* (Rodentia). *J. Mammal.* **74**, 261-269.
- Hoffer, A.P., y J. Greenberg, 1978: The structure of the epididymis, efferent ductules and ductus deferens of the guinea pig: a light microscope study. *Anat. Rec.* **190**, 659-678
- Hoffmeister, D. 1981: *Peromyscus truei*. *Mammalian Species.* **161**, 1-5
- Hogg, P. s., E. L Bradley y C. R. Terman, 1992: The effects of feeding triiodothyronine on reproductively inhibited prairie deermice (*Peromyscus maniculatus bairdii*) from laboratory populations. *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* **102**, 347-351.
- Hooper, E.T. 1968: Clasisification. En *Biology of Peromyscus* (Rodentia) (J.A. King, ed). Amer. Soc. Mamm. Spec. Publ. 41-75
- Horton, T. 1984: Growth and reproductive development of male *Microtus montanus* is affected by te prenatal photoperiod. *Biol Reprod* **31**, 99-104
- Houillon, C. 1988: Biología de los espermatozoides. En: *Sexualidad*. Omega Barcelona, España. 43-51
- Humason, G.L. 1979: *Animal Tissue Techniques*. 4th ed. San Francisco: W.H. Freeman and Co. 641 pp.
- Innes, D.G.L. y J.S. Millar, 1994: Life histories of *Clethrionomys* and *Microtus* (Microtinae). *Mamm. Rev.* **24**, 179-207

- I.C.V.G.A.N. 2005: Nomina Anatómica Veterinaria. Preprada por International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (I.C.V.G.A.N.) 5th ed. Hannover. 190 pp.
- Jaquot J. J. y S. H. Vessey. 1994: Non-offspring nursing in the white footed mouse *Peromyscus leucopus*. *Anim. Behav.* **48**, 1238-1246
- Jiménez, J. A., K. A. Hughes, G. Alaks, L. Graham, y R. C. Lacy, 1994: An experimental study of inbreeding depression in a natural habitat. *Science Wash.* **266**, 271-273.
- Jesik, C.J., J.M. Holland y C. Lee, 1982: An anatomic and histologic study of the rat prostate. *The prostate.* **3**, 81-97
- Joffre, M. y M. Kormano, 1975: An angiographic study of the fox testis in various stages of sexual activity. *Anat. Rec.* **183**, 599-604
- Johston, P.G. y I. Zucker, 1980: Photoperiodic regulation of reproductive development in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Biol. Reprod.* **22**, 983-989
- Jones, R., D.W. Hamilton and D.W. Fawcett, 1979: Morphology of the epithelium of the extratesticular rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymidis of the adult male rabbit. *Am. J. Anat.* **156**, 373-400
- Kaufman, G.A. y D.W. Kaufman, 1994: Changes in body mass related to capture in the prairie deer mouse *Peromyscus maniculatus*. *J. Mamm.* **75**(3), 681-691
- Kerr, J.B., K.L. Loveland, M.K. O'Bryan y D.M. Kretser, 2006: Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. (Ed. J.D. Neill). 3a. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA. **1**, 827-947
- King, J.A., J.C. Deshaies y R. Webster, 1963: Age of weaning of two subspecies of deer mice. *Science.* **139**, 483-484
- King, J. A. (Ed). 1968: Biology of *Peromyscus* (Rodentia). Spec. Publ. Amer. Soc. Mamm.
- Kirkland, Jr. y J.N. Layne, (Eds).1989: Advances in the study of *Peromyscus* (Rodentia). Texas Tech University Press.
- Kretser D. M y J. B. Kerr 1994: The citology of the testis En: Knobil E. y Neill D (eds.): The physiology of Reproduction. 2a ed. Raven preess **1**, 1177-1290.
- Kuhn-Velten, N.D., D. Bos, R. Schemer y W. Staib, 1987: Age dependence of the rat Leydig cell and sertolli cell function. *Act. Endocrinol.* **115**, 275-281
- Lackey, J.A. 1978: Reproduction, growth and development in high-latitude and low-latitude

- populations of *Peromyscus leucopus* (Rodentia). J. Mamm. **59**, 69-83
- Layne, J. N. 1968: Ontogeny. In: J. A. King, (Ed). Biology of *Peromyscus* (Rodentia). Spec. Publ. Amer. Soc. Mamm. **2**, 148-253.
- Linzey, A.V. y J.N. Layne, 1965: Comparative morphology of spermatozoa of the rodent genus *Peromyscus* (Muridae). Am. Museum Novitates. **2332**,1-19
- Linzey, A.V. y J.N. Layne, 1969: Comparative morphology of the male reproductive tract in the rodent genus *Peromyscus* (Muridae). Am. Museum Novitates. **2355**,1-47
- Long, J.A. y H. M. Evans. 1922: The estrous cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. California **6**, 1-148.
- Lord, R.D. Jr. 1960: Litter size and latitude in horth american mammals. Amer. Midland. Nat. **64**, 488-499
- Lorenzana, M.G., R. López-Wilchis, C.S. Gómez y M.C.U. Aranzabal, 2007: A light and scanning electron microscopic study of the epididymis active state of endemic Mexican rodent *Peromyscus winkelmanni* (Carleton) (Rodentia: Muridae). Anat. Histol. Embryol. **36**, 230-240
- Lynch, M.J., S.S., Raphael, L.D. Mellor, P.D. Spare y M.J.H. Inwood, 1977: Métodos de Laboratorio. 2a. ed. Interamericana, México. 1522 pp.
- Lynch, G.R. y H.A. Wichman, 1981: Reproduction and thermoregulation in *Peromyscus*: Effects of chronic short days. Physiol Behav **26**, 201-205
- Lynch, G.R., H.W. Heath, y C.M. Johnston, 1981: Effect of geographical origin on the photoperiodic control of reproduction in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. Biol. Reprod **25**, 475-480
- Lusk, S.J.G. y J.S. Millar, 1989: Reproductive inhibition in a short-season population of *Peromyscus maniculatus*. J. Anim Ecol **58**, 329-341
- Malpoux, B. 2006: Seasonal regulation of Reproduction in mammals. In: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. (Eds. J.D. Neill). 3nd. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA **2**, 2231-2281
- Martan, J., P.C. Risley y Z. Hruban, 1964: Holocrine cells of the human epididymis. Fertil. Steril. **15**, 180-187
- McCoy, G., M.F. Finlay, A. Rhone, K. James y G.P. Cobb, 1995: Chronic polychlorinated

biphnyls exposure on three generations of oldfield mice (*Peromyscus polionotus*)
Effects on reproduction, growth, and body residues. Arch. environ. contam. toxicol.
28, 431-435

Merritt, J.F. 1978: *Peromyscus californicus*. Mammalian Species **85**, 1-6

Merson, M.H. y R.L. Kirkpatrick, 1981: Relative sensitivity of reproductive activity and body-fat level to food restriction in white-footed mice. Am. Midl. Nat. **106**: 305-312

Millar, J.S., F.B. Wille, y S.L. Iverson, 1979: Breeding by *Peromyscus* in seasonal environments. Canadian J. Zool. **57**, 719-727

Millar, J.S. 1982: Lyfe cycle characteristics of northern *Peromyscus maniculatus borealis*. Canadian J. Zool. **60**, 510-515

Millar, J.S. 1983: Negative maternal effects in *Peromyscus maniculatus*. J. Mamm. **64**, 540-543

Millar, J.S. 1985: Lyfe cycle characteristics of *Peromyscus maniculatus nebrascensis*. Canadian J. Zool., **63**, 1280-1284

Millar, J.S. y D.G.L. Innes, 1985: Breeding by *Peromyscus maniculatus* over an elevational gradient. Canadian J. Zool. **63**, 124-129

Millar, J.S. 1989: Reproduction y Development. En: Advances in the study of *Peromyscus* (Rodentia). Eds. Kirkland, Jr. y Layne, J.N. Texas Tech University Press. 169-232

Millar, J.S., X. Xia, y M.B. Norrie, 1990: Relationships among reproductive status, nutritional status, and food characteristics in a natural population of *Peromyscus maniculatus*. Canadian Journal of Zoology. **69**(3) 555-559

Mittermeier, R.A. 1988: Primate conservation. Orion, vol. 8, no. 2, pp. 38-43, Spring,

Mittermeier, R.A., N. Myers, y C. Goettsch Mittermeier, 1999: Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered; Terrestrial Ecoregions. CEMEX Conservation International, pp. 430

Moffat, C. A., A. C. DeVries y R. J. Nelson, 1993: Winter adaptations of male deer mice (*Peromyscus maniculatus*) and prairie voles (*Microtus ochrogaster*) that vary in reproductive responsiveness to photoperiod. J.biol. Thythms. **3**, 221-232.

Montoya-Cruz, G.E. 1978: Morfología del aparato reproductor masculine de *Neotomodon alstoni* Merriam 1898 (Mammalia: Cricetidae). Tesis Licenciatura. UNAM México, D.F.

42 pp.

- Morton, M.L., M.L. Morrison, L.S. Hall y M.E. Pereyra, 1995: Lyfe history parameters in mice exposed to a prolonged drought Southwest Nat. **40**, 18-28
- Mossman, H.W. 1966: The rodent ovary. Symposium of Zoological Society of London. **15**: 445-470
- Mossman, H.W. 1973: Gross anatomy of the mammalian ovary. The University of Wisconsin Press
- Muñoz, E.M., T. Fogal, S. Domínguez, L. Scardapane, J. Guzmán, C. Cavicchia y S. Pezzi, 1998: Stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the Viscacha (*Lagostomus maximus maximus*). Anatomical Record **252**, 8-16
- Myers, P. y L.L. Master, 1983: Reproduction by *Peromyscus maniculatus*: size and compromise. J. Mamm., **64**, 1-18
- Myers, P., L.L. Master y R.A. Garret, 1985: Ambient temperature and rainfall: an effect on sex ratio and litter size in deer mice. J. Mamm., **66**, 289-298
- Negus, N.C. y P.J. Berger, 1977: Experimental triggering of reproduction in a natural population of *Microtus montanus*. Science **196**, 1230-1231
- Nelson, R.J. y C. Desjardin, 1987: Water availability affects reproduction in deer mice. Biol. Reprod. **37**: 257-260
- Nelson, R.J., D.J. Gubernick, y J.M.C. Bloom, 1995: Influence of photoperiod, gree food, and water availability on reproduction in male California mice (*Peromyscus californicus*) Physiol. behav. **57**, 1175-1180
- Nicander, L., 1957a: On the regional histology and citochemistry of the ductus epididymidis in the rabbit. Acta Morphol. Neerl. Scand. **1**, 99-118.
- Nicander, L., 1957b: Studies on the regional histology and citochemistry of the ductus epididymidis in stallions, rams and bulls. Acta Morphol. Neerl. Scand. **1**, 337-362.
- Nicander, L., y T.D. Glover, 1973: Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). J. Anat. **114**, 347-364.
- Nistal, M., R. Paniagua, J. Regadera y L. Santamaría, 1984: Mast cells in the human testis and epididymis from birth to adulthood. Acta Anat. **119**, 115-160
- Novak, R. M. 1999: Walker's mammals of the world. Sixth edition. Vols. I and II. Johns

- Hopkins Univ. Press, Baltimore. 1229 pp.
- Núñez-Garduño, A. 2000: La variación morfométrica y cariotípica y los ácaros parásitos de *Osgoodomys banderanus* (Rodentia: Muridae) e implicaciones en la taxonomía intraespecífica. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México. 149 pp.
- Olivera, J., J. Ramírez-Pulido, y S.L. Williams, 1986: Reproducción de *Peromyscus* (*Neotomodon*) *alstoni* (Mammalia:Muridae) en condiciones de laboratorio. Acta Zoológica Mexicana. **16**, 1-27
- Ohtsuka, A. 1984: Microvascular architecture of the pampiniform plexus-testicular artery system in the rat: a scanning microscope study of corrosion casts. Am. J. Anat. **169**, 285-293.
- Palacios, J., J. Regadera, R. Paniagua, C. Gamallo, y M. Nistal, 1993: Immunohistochemistry of the human ductus epididymis. Anat. Rec. **235**, 560-566.
- Pedersen, T. y J. Peters 1968: Proposal for a classification of oocytes and follicles in mouse ovary. J. Reprod. Fert. **17**, 555-557
- Perrigo, G. 1990: Food, sex, time and effort in a small mammal: Energy allocation strategies for survival and reproduction. Behaviour. **114**, 191-203
- Peromyscus* Genetic Stock Center, 2007: <http://stkctr.biol.sc.edu/>
- Phillips, D.M. y L.G. Dryden, 1991: Comparative morphology of mammalian gametes. In a comparative overview of mammalian fertilization. Eds. Dunbar, B.S., O'rand, M.G. Plenum Press., N.Y. U.S.A.
- Pierce, S.S. y F.D.Vogt, 1993: Winter acclimatization in *Peromyscus maniculatus gracilis*, *P. leucopus noveboracensis*, and *P. leucopus*. J Mammal. **74**, 665-677
- Pournelle, G.H. 1952: Reproduction and early post-natal development of the Cotton mouse, *Peromyscus gossypinus gossypinus*. J. Mamm. **33**, 1-20
- Presnell, J.K. y M.P. Schreibman, 1997: Animal Tissue Techniques. 5th de. The Johns Hopkins university press, Baltimore.
- Prophet, E.B., B. Mills, J.B Arrington, y L.H. Sobin, 1992: Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington, D.C.

- Pyter, L.M, A. K. Hotchkiss y R. J. Nelson, 2005: Photoperiod-induced differential expression of angiogenesis genes in testes of adult *Peromyscus leucopus*. *Reprod.* **129**, 201-209
- Qumsiyeh M. B. 1994: Evolution of number and morphology of mammalian chromosomes. *J. Hered.*, **85**, 455-465.
- Rajkovic, A., S.A. Pangas y M.M. Matzuk, 2006: Follicular development: Mouse, Sheep, and Human Models. In: *The Physiology of Reproduction*. 3rd. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA **1**, 383-424
- Ramírez Pulido, J. y M.C. Britton, 1981: An historical synthesis of the Mexican mammalian taxonomy. *Proc. Biol. Soc. Washington*, **91**:1-17
- Ramos, A.S. y M. Dym, 1977: Fine structure of the monkey epididymis. *Am. J. Anat.* **149**, 501-532.
- Ransone, S. N. y E. L. Bradley, 1992: Correlations between serum corticosterone concentration and reproductive conditions in the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus noveboracensis*). *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* **102**, 354-457.
- Reid B. L. y K.W., Cleland, 1957: The structure and function of the epididymis I. The histology of the rat epididymis. *Aust J Zool* **5**, 223-246.
- Rickart, E.A. y P.B. Robertson, 1985: *Peromyscus melanocarpus*. *Mammalian Species*. **241**, 1-3
- Robaire, B., B.T. Hinton y M.C. Orgebin-Crist, 2006 The epididymis. En: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. (Eds. J.D. Neill). 3rd. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA **1**, 1071-1148
- Ruefenacht, B. y R. L. Knight. 1995: Influences of corridor continuity and width on survival and movement of deermice *Peromyscus maniculatus*. *Biol. Conserv.* **71**, 269-275
- Russell, L.D., R.A. Etlin, A.P. Sinha Hikim y E.D. Clegg, 1990: Histological and histopathological evaluation of the testis. Cache River press, Clearwater, Fl
- Sadleir, R.M.F.S. 1969: "The ecology of reproduction in wild and domestic Mammals". Methuen. London. 309 pp.
- Scheiber, J.S. y M.J. O'Farrell, 1995: Habitat dynamics in *Peromyscus truei*: Eclectic females, density dependence, or reproductive constraints. *J. Mamm.* **76**, 368-375
- Schimming, B.C., y C.A. Vicentini, 2001: Ultrastructural features in the epididymis of the dog

(*Canis familiaris*, L.). Anat. Histol. Embryol. **30**, 327-332.

- Setchell B.P., S. Maddocks y D.E. Brooks, 1994: Anatomy, Vasculature, Innervation, and fluids of the Male reproductive tract. En: Knobil E. and Neill D (eds.): The Physiology of Reproduction. 2a. ed. Raven Press. Ltd., N.Y. 1063-1175
- Setchell B.P. y W.G. Breed, 2006: Anatomy, Vasculature, Innervation of the Male reproductive tract. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. (Eds. J.D. Neill). 3nd. ed. Academic Press, Elsevier, San Diego, USA **1**, 771-826
- Sinha Hikim AP y RS. Swerdloff, 1999: Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis Reviews of Reproduction **4**, 38-47
- Smith, M.H. y J.T. MCGinnis, 1968: Relationships of latitude, altitude and body size to litter size and mean annual production of offspring in *Peromyscus*. Res. Population Biol., **10**, 115-126
- Smith, S.A. I.F. Greenbaum, Schmidly D. J, K.M. Davis, y T.W. Houseal, 1989: Additional notes on karyotypic variation in the *Peromyscus boylii* species group. J. Mamm. **70**, 603-608
- Smith, S.A. 1990: Cytosystematic evidence against monophyly of the *Peromyscus Boylii* species group (Rodentia:Cricetidae) J.Mamm. **71**, 654-667.
- Smith, S.A., I.F. Greenbaum, y D. J. Schmidly. 1994: A problematic specimen of *Peromyscus* with an unusual karyotype. S. West. Nat., **39**, 289-291.
- Smithwick, E.B., y L.G. Young, 1997: Sequential histology of the adult chimpanzee epididymis. Tissue Cell **29**, 383-412.
- Spratt, N.T. Jr. 1971: Developmental Biology. Wadsworth Pu. Co. Inc., California. 553 pp.
- Sucheki, D., D. Y. Nelson, H. Van Oers, y S. Levine. 1995: Activation and inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the neonatal rat: Effects of maternal deprivation. Psychoneuroendocrinology, **20**, 169-182.
- Sullivan, J.M. y C.W. Kilpatrick, 1991: Biochemical systematics of the *Peromyscus aztecus* assemblage. J.Mamm. **72**, 681-696
- Suzuki, F., y P.A. Racey, 1976: Fine structural changes in the epididymal epithelium of moles (*Talpa europaea*) throughout the year. J. Reprod. Fert. **47**, 47-54.
- Taggart, D.A., y P.D., Temple-Smith, 1989: Structural features of the epididymis in a

- dasyurid marsupial (*Antechinus stuartii*). Cell Tissue Res **258**, 203-210.
- Terman, C.R. 1973: Reproductive inhibition in asymptotic populations of prairie deermice. J. Reprod fertil. **19**, 457-463
- Terman, C. R. 1992: Reproductive inhibition in female white-footed mice from Virginia. J. Mammal. **73**, 443-448.
- Terman, C. R. 1993: Studies of natyral populations of white-footed mice: Reduction of reproduction at varying densities. J. Mammal. **74**, 678-687.
- Timmons, P.M., P.W. Rigby y F. Poirier, 2002: The murine seminiferous epithelial cycle is pre-figured in the Sertoli cells of the embryonic testis. Development **129**, 635-647
- Vaughan, T.A. 1986: Mammalogy. 3rd. ed. Saunders College Pu. 576 pp.
- Vázquez Nin, G. y Echeverría, O. 2000: Introducción a la Microscopía Electrónica aplicada a las Ciencias Biológicas. Fondo de Cultura Económica. 168 pp.
- Veal, R. y Caire, W. 1979: *Peromyscus eremicus*. Mammalian Species. **118**, 1-6
- Villalpando, I., H.Villafan-Monroy, D. Aguayo, A. Zepeda Rodríguez, H. Granados-Espitia y A. Chávez-Olivares, 2000: Ultrastructure and motility of the *caudal* epididymis spermatozoa from the volcano mouse (*Neotomodon alstoni alstoni* Merriam, 1898). J. Exp. Zool. **287**, 316-326
- Viotto, M.J.S., A.M. Orsi, y E.A. Gregorio, 1996: Ultrastructural characteristics of epididymal epithelium of the cat (*Felis domestica*, L.) Braz. J. Morphol. Sci. **13**, 51-58.
- Wahlqvist, R., E. Dahl, y K.J. Tvetter, 1996: Scanning electron microscopy of the accesory sex glands of the adult male rat. Scanning microscopy **10**, 1143-1154
- Weaver, D.R., L.L. Carlson y S.M. Reppert, 1990: Melatonin receptors and signal transduction in melatonin-sensitive and melatonin-insensitive populations of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) Brain Res **506**, 353-357
- Whitsett, J.M. y A.D. Lawton, 1982: Social stimulation of reproductive development in male deer mice housed on a short-day photoperiod. J. Comp Physiol Psychol **96**, 416-422
- Whitsett, J.M., A.D. Lawton y L.L Miller, 1984: Photosensitivesatges in pubertal development of male deer mice (*Peromyscus maniculatus*) J Reprod Fertil **72**, 269-276
- Williams, S.L., J. Ramírez-Pulido, y R.J. Baker, 1985: *Peromyscus Alstoni*. Mammalian Species. **242**, 1-4

- Wilson D.E. y D.A.M. Reeder, (Eds.) 1993: Mammal Species of The World. 2nd. ed. Smithsonian Institution Press. Washington, U.S.A. 1206 pp.
- Wolff, J.O. 1986: The effects of food on midsummer demography of white-footed mice *Peromyscus leucopus*. Can. J Zool. **64**, 855-858
- Wolff, J. O. 1994: Reproductivae succes of solitarily and communally nesting white-footed mice and deer mice. Behav Ecol. **5**, 206-209.
- Wolfe, J.L. y A.L. Linzey, 1977: *Peromyscus gossypinus*. Mammalian Species. **70**, 1-5
- Yener T., A. Turkkani Tunc, H. Aslan, H. Aytan y A. Cantug Caliskan 2007: Determination of Oestrous Cycle of the Rats by Direct Examination: How Reliable? Anat. Histol. Embryol. **36**, 75–77
- Yeung, C.H., T.G., Cooper, M. Bergmann, and H. Schultze, 1991: Organization of tubules in the human *caput* epididymis and the ultrastructure of their epithelia. Amer. J. Anat., **191**, 261-279.
- Young, C.J. y J. Knox, 1983: *Peromyscus yucatanicus*. Mammalian Species. **196**,1-3
- Young KA, B.R. Zirkin y R.J. Nelson, 2000: Testicular regression in response to food restriction and short photoperiod in white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) is mediated by apoptosis. Biol Reprod. **62**, 347–354
- Young, K.A. and R.J. Nelson, 2001 Mediation of seasonal testicular regression by apoptosis. Reproduction. **122**, 677-685
- Zar, J.H., 1999: Biostatistical Analysis. 4th ed. Prentice Hall, USA. 663 pp.
- Zarrow, M.X, 1964: Experimental endocrinology source book or basic technique. Academic Press, New York.
- Zayed, A.E., A. Hifny, A. Abou-Elmagd y K.H. Wrobel, 1995. Seasonal changes in the intertubular tissue of the camel testis (*Camelus dromedarius*). Anat. Anz **177**, 199-212
- Zimmerling, L. M., y T. P. Sullivan, 1994: Influence of mustelid semiochemicals on population dynamics of the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*). J. Chem. Ecol. **20**, 667-689

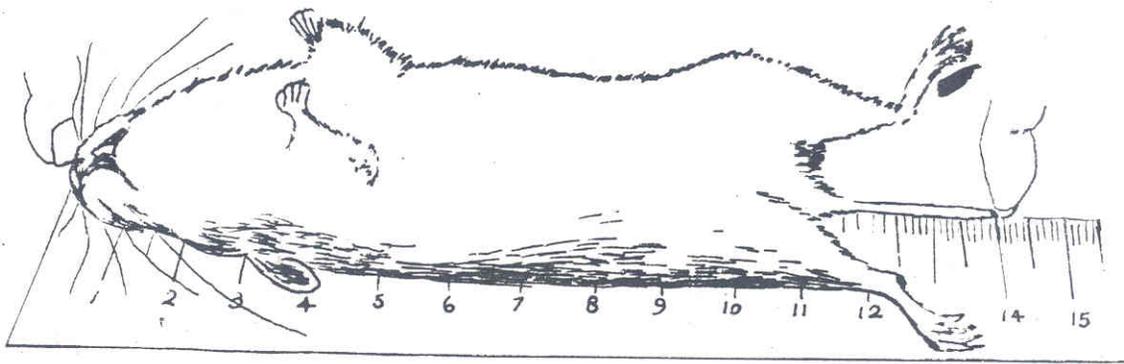
ANEXOS

A. Datos morfométricos.

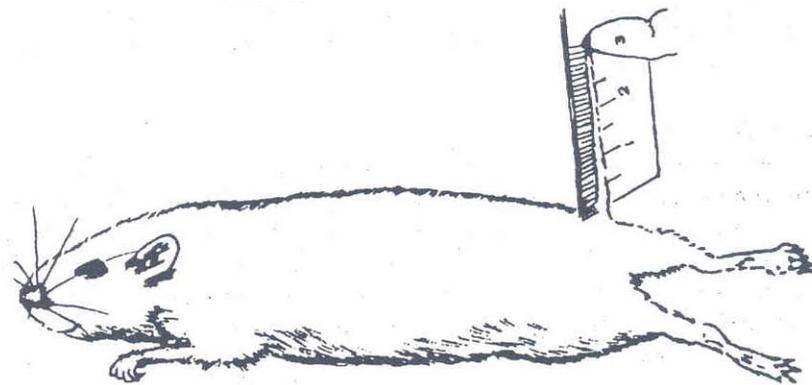
Los parámetros morfométricos considerados en los estudios mastozoológicos, de acuerdo a Hall (1981) se enlistan a continuación:

Tomados de Núñez (2000).

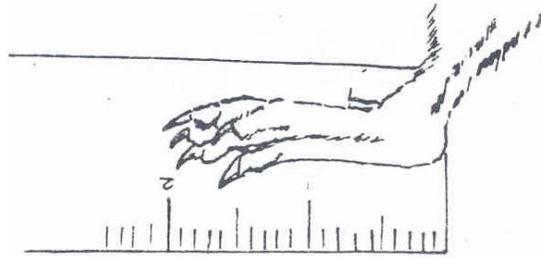
- **Fig. 30** Longitud total (LT). Se considera desde la punta del hocico a la punta de la cola dorsalmente y sin considerar los pelos terminales (Tomada de).



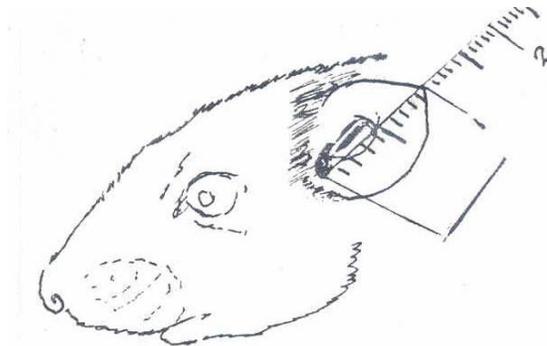
- **Fig. 31** Cola vertebral (CV). Se mide colocando la cola del roedor en ángulo de 90°, desde la base de la cola hasta la punta de la misma, excluyendo los pelos terminales.



- **Fig. 32** Pata trasera (PT). Se mide la planta de la pata, del talón a la punta del dedo más largo con excepción de pelos y uñas.



- **Fig. 33** Oreja (O). Se mide por dentro, desde la parte pegada a la cabeza hasta la extremidad libre.



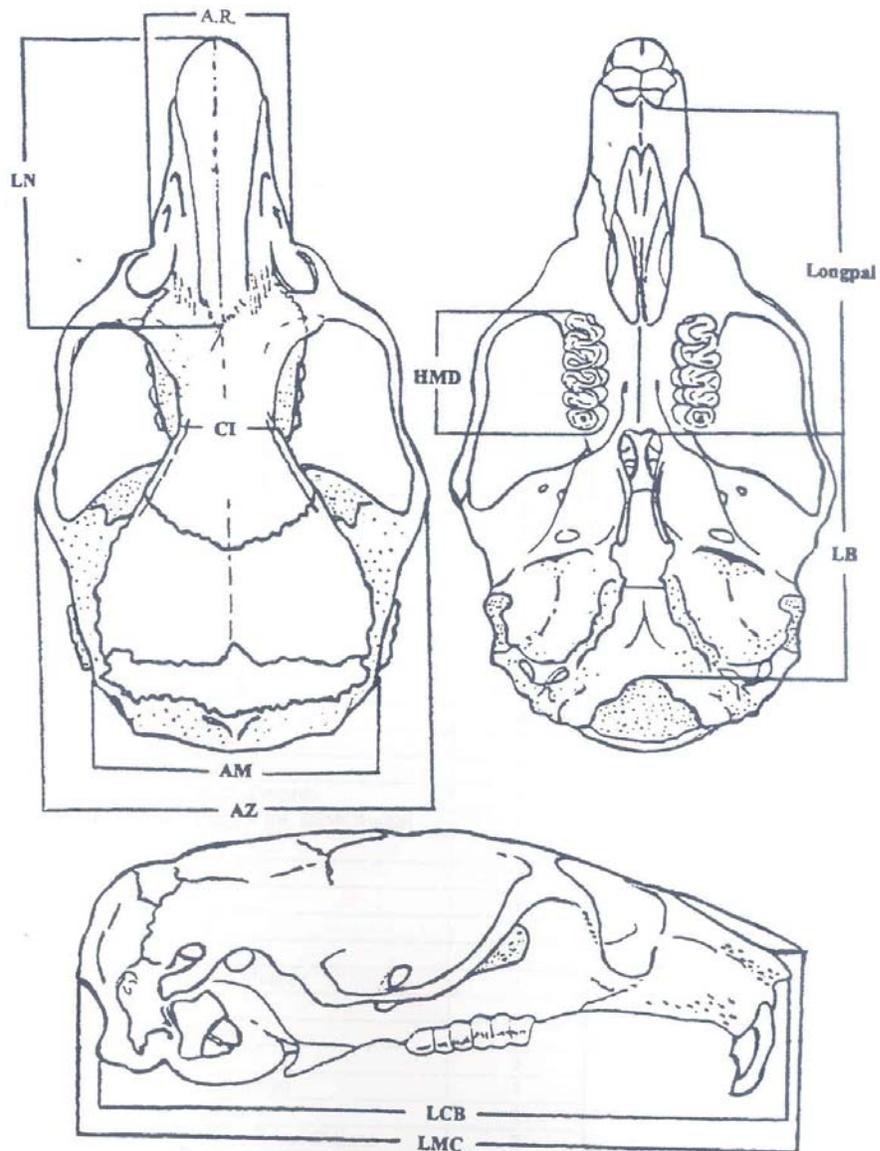


Fig. 34 Medidas Craneales Consideradas

AM = anchura mastoidea, AR = anchura del rostro, AZ = anchura zigomática, CI = contricción interorbitaria, HMD = hilera maxilar de dientes, LB = longitud basilar, LCB = longitud cóndilo basal, LMC = longitud mayor del cráneo, LN = longitud nasal, Longpal = longitud palatina.

B. Microscopía de luz

B.1 Procesamiento

Lavado. Los órganos fijados en formalina y bouin fueron lavados en etanol al 70 %. En el caso del material fijado en bouin hasta que el etanol no se colorea por la acción del ácido pícrico.

Deshidratación. Dos pasos de etanol de 80%, 96% y 100%; de 40 minutos cada uno.

Aclaramiento. Se aclararon con una mezcla 1:1 de etanol 100%-xileno y dos pasos de xileno puro. Cada paso de 40 minutos cada uno.

Inclusión. Se realizó con dos pasos en Paraplast con DMSO y de punto de fusión de 56° C (Oxford). El primer paso de 2 horas y el segundo varió de acuerdo al tamaño de los órganos, de 4 a 12 horas.

B.2 Corte. De cada órgano se obtuvieron cortes seriados de 5 micrómetros (en plano sagital).

B.3 Técnicas de Tinción

Algunos de los cortes se tiñeron con las siguientes técnicas:

B.3.1 Hematoxilina y eosina (H-E) (Prophet *et al.*, 1992).

B.3.2 Tricrómica de Masson (Lynch *et al.*, 1977).

B.3.3 Azul de alciano (pH 2.5) (Presnell y Schreibman, 1997).

B.3.4 Azul de alciano (pH 1) (Presnell y Schreibman, 1997).

B.3.5 Peryodic acid Schiff (Humason, 1979).

B.3.6 Papanicolau (Lynch *et al.*, 1977)

B.3.1 Hematoxilina y Eosina

1. Desparafinado:

Xileno I (5 minutos), xileno II (5 minutos) y xileno-etanol (1:1) (5 minutos)

2. Hidratación:

Etanol anhidro I (5 minutos), etanol anhidro II (5 minutos), etanol 96° GL I (3 minutos), etanol 96° GL II (3 minutos), etanol 80 ° GL (3 minutos), etanol 60 ° GL (3

minutos) y agua destilada (3 minutos).

3. Tinción:

Hematoxilina de Harris 5-8 minutos

4. Lavado:

Agua corriente 20 segundos

5. Diferenciación:

Etanol ácido 20 segundos

6. Agua de la llave 2 segundos

7. Azuleamiento:

Substituto de Scott 1 minuto

8. Agua de la llave 20 segundos

9. Contrastado:

Eosina Amarillenta 3-4 minutos

10. Agua destilada 40 segundos

11. Deshidratación:

Etanol 96° GL I (30 segundos), etanol 96° GL II (30 segundos), etanol anhidro I (30 segundos), etanol anhidro II (30 segundos), etanol anhidro-xileno (1:1) (30 segundos), xileno I (20 segundos), xileno II (20 segundos).

12. Montaje en Entellan (Merck).

Resultados

Regiones ácidas Azul a morado

Regiones básicas Rosa a naranja

Preparación de colorantes y soluciones

Solución madre de Hematoxilina de Harris.

| | |
|-------------------------------|-------|
| Hematoxilina en polvo | 1 g |
| Óxido rojo de mercurio | 0.5 g |
| Sulfato de aluminio y potasio | 100 g |
| Etanol absoluto | 10 ml |

Agua destilada 200 ml

Disolver la hematoxilina en el etanol absoluto, calentar a baño maría, conservando el vaso tapado; en el vaso de precipitados de 600 ml disolver el sulfato de aluminio y potasio en 100 ml de agua destilada, calentando ligeramente. Se mezclan las dos soluciones y se añaden los 100 ml del agua destilada restante. Se hierve la mezcla un momento, se retira del calor y se deja enfriar. Añadir el rojo de mercurio lentamente (es explosivo) y calentar nuevamente hasta que tome un color rojo púrpura (3 minutos aproximadamente). Enseguida, enfriar con hielo y filtrar 10 veces para eliminar residuos del sulfato. Esta solución es estable, siempre que no se le agregue ácido acético, por lo que se considera solución madre. Conservar en frasco ambar.

Solución de Trabajo de Hematoxilina de Harris.

Solución madre de Hematoxilina de Harris 10 ml

Ácido Acético 1 a 3 ml

Se filtra y se usa.

Solución madre de Eosina Amarillenta.

Eosina Y hidrosoluble 1 g

Agua destilada 20 ml

Etanol de 96° G.L. 80 ml

Se disuelve la eosina en el agua y se le añade el alcohol. Se deja madurar durante tres semanas a la luz y en un frasco transparente.

Solución de trabajo de Eosina Amarillenta.

Una parte de solución madre de eosina amarillenta.

Tres partes de alcohol etílico de 80° G.L.

Agregar 0.6 ml de ácido acético por cada 100 ml de solución de trabajo.

Alcohol ácido.

Alcohol etílico de 70° G.L. 100 ml

Ácido clorhídrico 1 ml

Substituto de Scott

Bicarbonato de Sodio 3.0 g

Sulfato de Magnesio 20.0 g

Agua destilada 1000 ml

Agregar cristales de Timol para evitar contaminaciones por hongos

B.3.2 Tricrómica de Masson

1. Desparafinado:

Xileno I (5 minutos), xileno II (5 minutos) y xileno-etanol (1:1) (5 minutos)

2. Hidratación:

Etanol anhidro I (5 minutos), etanol anhidro II (5 minutos), etanol 96° GL I (3 minutos), etanol 96° GL II (3 minutos), etanol 80 ° GL (3 minutos), etanol 60 ° GL (3 minutos) y agua destilada (3 minutos).

3. Mordente:

Solución saturada de ácido pícrico (12 horas), agua corriente (15-20 minutos).

4. Tinción I:

Hematoxilina de Groat 3-5 minutos

5. Lavado:

Agua corriente 20 segundos

6. Diferenciación:

Etanol ácido 20 segundos

7. Agua corriente 15 minutos

8. Tinción II:

Rojo Ponceau 1 minuto

9. Lavado:

Agua destilada 20 segundos

10. Tinción III:

Azul de anilina 1 minuto

11. Lavado:

Agua corriente 20 segundos

Agua destilada 20 segundos

12. Diferenciación:

Agua acética 5 minutos

13. Deshidratación:

Etanol 96° GL I (30 segundos), etanol 96° GL II (30 segundos), etanol anhidro I (30 segundos), etanol anhidro II (30 segundos), etanol anhidro-xileno (1:1) (30 segundos)

segundos), xileno I (20 segundos), xileno II (20 segundos).

14. Montaje en Entellan (Merck).

Resultados

Nucleos café obscuro

Citoplasma de rojo vivo a verdoso

Eritrocitos amarillo

Fibras de colágena y estructuras ricas en mucopolisacáridos ácidos azul.

Preparación de colorantes y soluciones

Hematoxilina de Groat:

Disolver 1 g de alumbre de hierro en 50 ml de agua destilada. Añadir 0.8 ml de H₂SO₄; después 50 ml de alcohol de 96°, disolver en esta mezcla 0.5 g de hematoxilina.

La disolución de la hematoxilina se acelera preparando aparte el alúmbre sulfúrico – agua y mezclando con él, alcohol en el que se disuelve previamente la hematoxilina.

Azul anilina

Azul anilina 2.5 g

Ac. acético glacial 2.0 ml

Agua destilada 100 ml

Mordente de Bouin

1g ac. Pícrico

100 ml agua destilada

Ac. Orange G

Ac. Fosfomolibdido o fosfotúngtico 5 g

Agua destilada 100 ml

Orange G 2 gramos

Mezcla Fucsina Ponceau:

| | |
|----------------|--------|
| Rojo Ponceau | 0.2 g |
| Fucsina ácida | 0.1 g |
| Agua destilada | 300 ml |
| Ac. Acético | 0.6 ml |

B.3.3 Método de Azul de Alciano (pH 2.5).

1. Desparafinado:

Xileno I (5 minutos), xileno II (5 minutos) y xileno-etanol (1:1) (5 minutos)

2. Hidratación:

Etanol anhidro I (5 minutos), etanol anhidro II (5 minutos), etanol 96° GL I (3 minutos), etanol 96° GL II (3 minutos), etanol 80 ° GL (3 minutos), etanol 60 ° GL (3 minutos) y agua destilada (3 minutos).

3. Baño de ácido acético al 3%. 3 minutos.

4. Tinción I:

Azul alciano 30 minutos

5. Lavado:

Lavar en agua corriente durante dos minutos; enjuagar en agua destilada.

6. Contrastado:

Teñir con Kernechtrot 5 min.

7. Lavado:

Lavar rápidamente en agua corriente.

8. Deshidratación:

Etanol 96° GL I (30 segundos), etanol 96° GL II (30 segundos), etanol anhidro I (30 segundos), etanol anhidro II (30 segundos), etanol anhidro-xileno (1:1) (30 segundos), xileno I (20 segundos), xileno II (20 segundos).

9. Montaje en Entellan (Merck).

Resultados

Mucopolisacáridos ácidos Azul - verde intenso

Núcleos Rojo

Preparación de colorantes y soluciones

Azul alciano, 1 g

agua destilada, 97 ml

ácido acético glacial, 3 ml

(se recomienda el uso de un cristal de timol para evitar la contaminación por hongos).

Esta solución tiene un pH de 2.5.

B.3.4 Método de Azul de Alciano (pH 1).

1. Desparafinado:

Xileno I (5 minutos), xileno II (5 minutos) y xileno-etanol (1:1) (5 minutos)

2. Hidratación:

Etanol anhidro I (5 minutos), etanol anhidro II (5 minutos), etanol 96° GL I (3 minutos), etanol 96° GL II (3 minutos), etanol 80 ° GL (3 minutos), etanol 60 ° GL (3 minutos) y agua destilada (3 minutos).

3. Tinción:

Azul de Alciano. 30 minutos.

4. Secado:

Las preparaciones se secan, cuidadosamente, con papel filtro.

5. Deshidratación:

Etanol 96° GL I (30 segundos), etanol 96° GL II (30 segundos), etanol anhidro I (30 segundos), etanol anhidro II (30 segundos), etanol anhidro-xileno (1:1) (30 segundos), xileno I (20 segundos), xileno II (20 segundos).

6. Montaje en Entellan (Merck).

Resultados

Mucopolisacáridos ácidos Azul - verde claro

Núcleos Rojo

B.3.5 Peryodic Acid Schiff

1. Desparafinado:

Xileno I (5 minutos), xileno II (5 minutos) y xileno-etanol (1:1) (5 minutos)

2. Hidratación:

Etanol anhidro I (5 minutos), etanol anhidro II (5 minutos), etanol 96° GL I (3 minutos), etanol 96° GL II (3 minutos), etanol 80 ° GL (3 minutos), etanol 60 ° GL (3 minutos) y agua destilada (3 minutos).

3. Oxidación:

Se colocaron las preparaciones en solución de ácido periódico durante 5 minutos.

4. Lavado:

Agua corriente 5 minutos

5. Reactivo de Schiff:

10 minutos

6. Soluciones de sulfito:

3 cambios de 2 minutos cada uno

7. Lavado:

Agua corriente 5 minutos

8. Contrastado

Hematoxilina de Harris 5 minutos

9. Deshidratación:

Etanol 96° GL I (30 segundos), etanol 96° GL II (30 segundos), etanol anhidro I (30 segundos), etanol anhidro II (30 segundos), etanol anhidro-xileno (1:1) (30 segundos), xileno I (20 segundos), xileno II (20 segundos).

10. Montaje en Entellan (Merck).

B.3.6 Tinción de Papanicolau

Los frotis se fijaron con citospray.

| | |
|----------------------------------|-------------|
| 1. Etanol 80% | 10 segundos |
| 2. Etanol 70% | 10 segundos |
| 3. Etanol 50% | 10 segundos |
| 4. Agua destilada | 10 segundos |
| 5. Hematoxilina de Harris | 3 minutos |
| 6. Agua corriente | 3-5 minutos |
| 7. Etanol ácido | 10 segundos |
| 8. Agua corriente | 3-5 minutos |
| 9. Solución Scott | 4 minutos |
| 10. Agua destilada | 1 segundo |
| 11. Etanol 50% | 10 segundos |
| 12. Etanol 70% | 10 segundos |
| 13. Etanol 80% | 10 segundos |
| 14. Etanol 95% | 10 segundos |
| 15. Naranja G 6 | 2 minutos |
| 16. Etanol 95% | 10 segundos |
| 17. Etanol 95% | 10 segundos |
| 18. EA-50 | 5 minutos |
| 19. Etanol 95% | 5 segundos |
| 20. Etanol 95% | 5 segundos |
| 21. Etanol 95% | 5 segundos |
| 22. Etanol absoluto | 2 minutos |
| 23. Xileno | 1 minuto |
| 24. Xileno | 1 minuto |
| 25. Xileno | 1 minuto |

C. Microscopía electrónica.

El material considerado para su análisis con microscopía electrónica se procesó con una fijación por riego intravascular. Procedimiento que se describe a continuación.

C.1 Fijación por riego Intravascular

Se anestesiaron los ejemplares con eter, hasta que pierden el reflejo palpebral. Una vez anestesiado se colocaron sobre la plancha de disección con los miembros atados. Se mantuvo un frasco de 50 ml con un algodón empapado en eter cerca de la nariz de los ejemplares. El pelo de la región torácica fue humedecido y rasurado. Se cortó la piel con una incisión media, desde el cuello hasta por debajo de la apófisis xifoides esternal; fue separada la piel en dos colgajos laterales que exponen ampliamente el plano costo-muscular. Sobre el plano medio se realizó una nueva incisión de manera que se corta el esternón, el cual se mantuvo con separadores para exponer la cavidad cardiaca. Se abrió el pericardio y se introdujo una aguja de bisel corto y delgado, en el ventrículo izquierdo para comenzar el lavado de la sangre con la solución amortiguada de fosfatos con heparina y xilocaina. Se cortó la aurícula derecha y se dejó salir la sangre que se absorbió con pipeta Pasteur con extremo romo.

Después de lavar por riego a flujo rápido por minuto y medio, se inició el paso del fijador con paraformaldehído al 4% en solución amortiguadora de fosfatos durante 10 minutos a flujo rápido y posteriormente a 15 minutos a flujo lento. Al tiempo que se fijó se expuso el aparato reproductor y se bañó con el mismo fijador.

Concluida la fijación por riego intravascular se disecaron los órganos seleccionados del aparato reproductor, para lo cual se tomaron muestras de 1 a 3 mm aproximadamente y se colocaron en viales con un fijador de glutaraldehído 2.5% con paraformaldehído al 4% en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a pH de 7.2) durante dos horas en refrigeración.

Solución amortiguadora de fosfatos 0.16 M a pH 7.2

| | |
|--|---------|
| $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | 14.34 g |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1.49g |
| Agua destilada | 500 ml |

En el proceso de fijación por riego intravascular se agregan 3 ml de xilocaina al 2% y 555 unidades de heparina por cada 100 ml de la solución amortiguadora.

C. 2 Microscopía de Barrido.

Lavado. Para eliminar el exceso de fijador se lavó en tres ocasiones (15 minutos cada una de ellas) con solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2).

Postfijación. Este paso se realizó con tetraóxido de osmio, al 1% en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2) durante cuatro horas.

Lavado. en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2).

Deshidratación. A partir de alcohol etílico de 30%, 50%, 70%, 80%, 90% y 96% diez minutos en cada uno. Tres pasos de alcohol etílico absoluto de 10 minutos cada uno.

Desecado al punto crítico. La deshidratación culmina con la desecación al punto crítico, empleando para ello el equipo denominado desecador de punto crítico, para lo cual las muestras se colocaron en cápsulas embebidas en alcohol etílico absoluto. Se empleó como disolvente de transición CO₂.

Una vez desecadas se montaron en los soportes de aluminio específicos compatibles para la evaporadora de carbono y oro.

Recubrimiento con oro. Se recubrieron usando la evaporadora de carbono y oro y se mantuvieron en un ambiente seco, colocándolas en un desecador de vidrio. Las muestras así procesadas se observaron al microscopio electrónico de barrido.

C. 3 Microscopía de Transmisión.

Disección. Una vez separados los epidídimos de los testículos, se disecaron obteniendo secciones de 1 mm de la cabeza, el cuerpo y la cola, con la ayuda de navajas de afeitar (previamente se les limpió de la cera antioxidante que presentaron).

Fijación. El material disecado se mantuvo dos horas en el fijador de glutaraldehído 2.5% con paraformaldehído al 4% en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2) en refrigeración.

Lavado.

Tres lavados de 15 minutos cada uno en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 M a PH de 7.2).

Postfijación.

En tetraóxido de osmio al 1% en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 m a PH de 7.2) durante 4 horas.

Lavado.

Tres lavados de 10 minutos en solución amortiguadora de fosfatos (0.16 m a PH de 7.2).

Deshidratación.

A partir de alcohol etílico de 70%, 80%, 90% y 96% diez minutos en cada uno. Tres pasos de alcohol etílico absoluto de 10 minutos cada uno. Finalmente tres pasos de óxido de propileno de 10 minutos cada uno.

Preinclusión.

Resina epóxica con óxido de propileno en proporción de 1:1 durante 24 horas.

Inclusión.

Inclusión en resina epóxica (Merck) durante 24 horas a 56 grados C

Corte.

Empleando el ultramicrotomo (Sorval) se obtuvieron cortes semifinos de 0.1 μm para localización de los conductos epidimarios. Una vez seleccionada la zona se obtuvieron cortes ultrafinos de alrededor de 100 nm.

Contraste.

Se empleó acetato de Uranilo alcohólico y citrato de plomo.
(Vázquez Nin y Echeverría, 2000).

D. Conducta.

Los datos fueron registrados en una matriz del siguiente tipo:

| NUMERO DE EJEMPLAR HORA | DIA 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--|------------------|----------|----------|----------|----------|
| 1 | A | A | D | D | A |
| 2 | A | A | D | D | D |
| 3 | D | D | A | A | D |

E. Análisis estadístico.

PESO CORPORAL MACHOS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 11:20:40 a.m.
 Database C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\AL ... DOCTORADOMGL\TESIS\MACHOS.S0
 Response C1,C2

Analysis of Variance Table

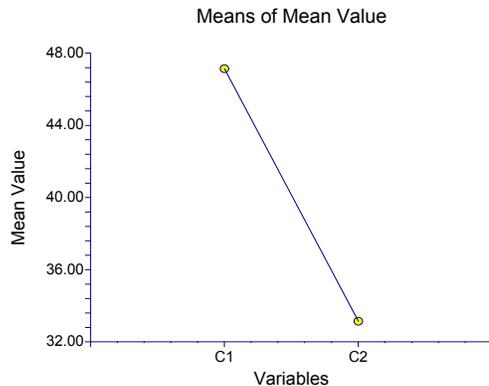
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|----------------|-------------|---------|------------|--------------------|
| A (...) | 1 | 570.7337 | 570.7337 | 17.34 | 0.001936* | 0.810795 |
| S(A) | 10 | 329.1463 | 32.91463 | | | |
| Total (Adjusted) | 11 | 899.88 | | | | |
| Total | 12 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|----------|----------------|-----------|
| All | 12 | 41.3 | | 40.13428 |
| A: | | | | |
| C1 | 7 | 47.12857 | 2.16843 | 6.994286 |
| C2 | 5 | 33.14 | 2.565721 | -6.994286 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C1,C2

Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=32.91463 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 33.14 | C1 |
| C1 | 7 | 47.12857 | C2 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 11:20:40 a.m.
Database C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\AL ... DOCTORADOMGL\TESIS\MACHOS.S0
Response C1,C2

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=32.91463 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 33.14 | C1 |
| C1 | 7 | 47.12857 | C2 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=32.91463

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 33.14 | C1 |
| C1 | 7 | 47.12857 | C2 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=32.91463 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 33.14 | C1 |
| C1 | 7 | 47.12857 | C2 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=32.91463 Critical Value=3.151092

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|--------------|--------------|-------------|--------------------|
| C2 | 5 | 33.14 | C1 |
| C1 | 7 | 47.12857 | C2 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 11:20:40 a.m.
 Database C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\AL ... DOCTORADOMGL\TESIS\MACHOS.S0
 Response C1,C2

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C1 | C2 |
|-----------------|-----------|-----------|
| C1 | 0.0000 | 2.8420 |
| C2 | 2.8420 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600
 Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

PESO GONADAL MACHOS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 02:31:35 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
 Response C3,C4

Analysis of Variance Table

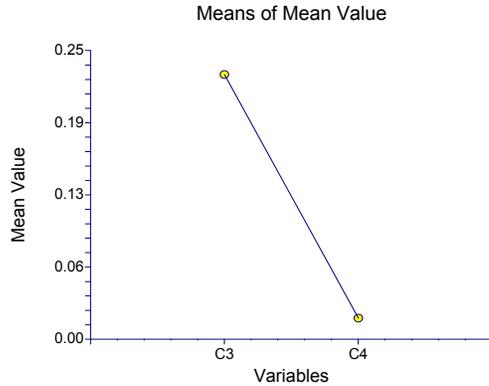
| Source Term | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|-------------------|----------------|---------|---------------|-----------------------|
| A (...) | 1 | 0.1297088 | 0.1297088 | 152.78 | 0.000000* | 1.000000 |
| S(A) | 10 | 8.489969E-03 | 8.489969E-04 | | | |
| Total (Adjusted) | 11 | 0.1381987 | | | | |
| Total | 12 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|-----------|-------------------|------------|
| All | 12 | 0.141275 | | 0.1237014 |
| A: | | | | |
| C3 | 7 | 0.2291429 | 1.101296E-02 | 0.1054414 |
| C4 | 5 | 0.01826 | 1.303071E-02 | -0.1054414 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C3,C4
 Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=8.489969E-04 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|--------------------------|
| C4 | 5 | 0.01826 | C3 |
| C3 | 7 | 0.2291429 | C4 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 02:31:35 p.m.
Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
Response C3,C4

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=8.489969E-04 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.01826 | C3 |
| C3 | 7 | 0.2291429 | C4 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=8.489969E-04

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.01826 | C3 |
| C3 | 7 | 0.2291429 | C4 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=8.489969E-04 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.01826 | C3 |
| C3 | 7 | 0.2291429 | C4 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=8.489969E-04 Critical Value=3.151092

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|-------|-------|-----------|-------------|
| C4 | 5 | 0.01826 | C3 |
| C3 | 7 | 0.2291429 | C4 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 02:31:35 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
 Response C3,C4

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C3 | C4 |
|----------|--------|--------|
| C3 | 0.0000 | 2.8420 |
| C4 | 2.8420 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

INDICE GONADOSOMÁTICO MACHOS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 04:07:01 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
 Response C5,C6

Analysis of Variance Table

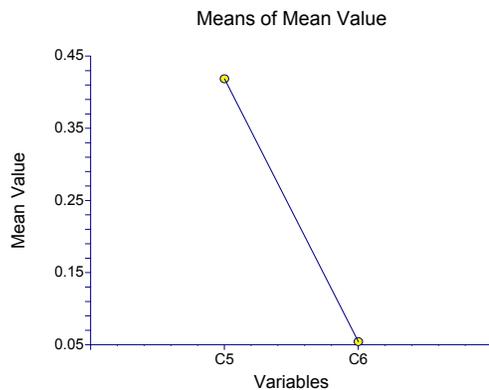
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|----------------|--------------|---------|------------|--------------------|
| A (...) | 1 | 0.3869322 | 0.3869322 | 34.56 | 0.000155* | 0.987917 |
| S(A) | 10 | 0.1119585 | 1.119585E-02 | | | |
| Total (Adjusted) | 11 | 0.4988907 | | | | |
| Total | 12 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|-----------|----------------|------------|
| All | 12 | 0.2666667 | | 0.2363143 |
| A: | | | | |
| C5 | 7 | 0.4184286 | 3.999259E-02 | 0.1821143 |
| C6 | 5 | 0.0542 | 4.731987E-02 | -0.1821143 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C5,C6

Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=1.119585E-02 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0542 | C5 |
| C5 | 7 | 0.4184286 | C6 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 04:07:01 p.m.
Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
Response C5,C6

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=1.119585E-02 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0542 | C5 |
| C5 | 7 | 0.4184286 | C6 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=1.119585E-02

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0542 | C5 |
| C5 | 7 | 0.4184286 | C6 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=1.119585E-02 Critical Value=2.228139

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|-----------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0542 | C5 |
| C5 | 7 | 0.4184286 | C6 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=10 MSE=1.119585E-02 Critical Value=3.151092

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|--------------|--------------|-------------|--------------------|
| C6 | 5 | 0.0542 | C5 |
| C5 | 7 | 0.4184286 | C6 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 04:07:01 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... doctoradomgl\tesis\machos.S0
 Response C5,C6

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C5 | C6 |
|----------|--------|--------|
| C5 | 0.0000 | 2.8420 |
| C6 | 2.8420 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600
 Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

PESO CORPORAL HEMBRAS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 04:09:33 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomg\ltesis\hembras.S0
 Response C1,C2

Analysis of Variance Table

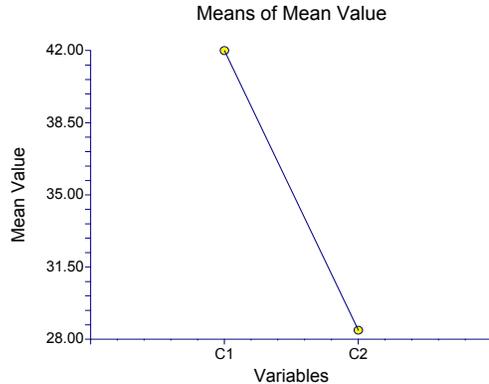
| Source Term | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|-------------------|----------------|---------|---------------|-----------------------|
| A (...) | 1 | 631.591 | 631.591 | 34.81 | 0.000039* | 0.995033 |
| S(A) | 14 | 254.0158 | 18.14399 | | | |
| Total (Adjusted) | 15 | 885.6068 | | | | |
| Total | 16 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|----------|-------------------|-----------|
| All | 16 | 37.755 | | 35.21346 |
| A: | | | | |
| C1 | 11 | 41.99091 | 1.28431 | 6.777454 |
| C2 | 5 | 28.436 | 1.90494 | -6.777454 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C1,C2
 Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=18.14399 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|--------------------------|
| C2 | 5 | 28.436 | C1 |
| C1 | 11 | 41.99091 | C2 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 04:09:33 p.m.
Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomgl\tesis\hembras.S0
Response C1,C2

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=18.14399 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 28.436 | C1 |
| C1 | 11 | 41.99091 | C2 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=18.14399

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 28.436 | C1 |
| C1 | 11 | 41.99091 | C2 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=18.14399 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|----------|-----------------------|
| C2 | 5 | 28.436 | C1 |
| C1 | 11 | 41.99091 | C2 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C1,C2
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=18.14399 Critical Value=3.033205

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|-------|-------|----------|-------------|
| C2 | 5 | 28.436 | C1 |
| C1 | 11 | 41.99091 | C2 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 04:09:33 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomg\tesis\hembras.S0
 Response C1,C2

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C1 | C2 |
|----------|--------|--------|
| C1 | 0.0000 | 3.1154 |
| C2 | 3.1154 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

PESO GONADAL HEMBRAS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 04:10:33 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomgl\tesis\hembras.S0
 Response C3,C4

Analysis of Variance Table

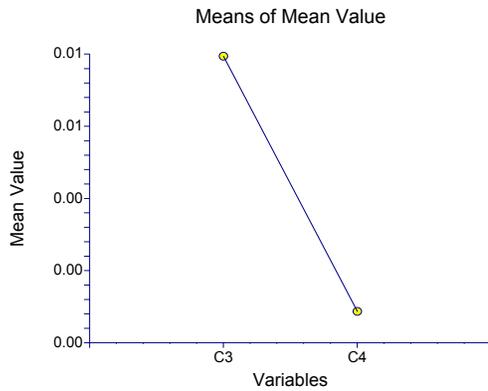
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|----------------|--------------|---------|------------|--------------------|
| A (...) | 1 | 3.287956E-05 | 3.287956E-05 | 27.71 | 0.000120* | 0.978937 |
| S(A) | 14 | 1.660982E-05 | 1.186416E-06 | | | |
| Total (Adjusted) | 15 | 4.948938E-05 | | | | |
| Total | 16 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|--------------|----------------|---------------|
| All | 16 | 5.00625E-03 | | 4.426364E-03 |
| A: | | | | |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | 3.284143E-04 | 1.546364E-03 |
| C4 | 5 | 0.00288 | 4.871172E-04 | -1.546364E-03 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C3,C4
 Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.186416E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.00288 | C3 |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | C4 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 04:10:33 p.m.
Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomgl\tesis\hembras.S0
Response C3,C4

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.186416E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.00288 | C3 |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | C4 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.186416E-06

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.00288 | C3 |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | C4 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.186416E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C4 | 5 | 0.00288 | C3 |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | C4 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C3,C4
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=1.186416E-06 Critical Value=3.033205

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|-------|-------|--------------|-------------|
| C4 | 5 | 0.00288 | C3 |
| C3 | 11 | 5.972727E-03 | C4 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 04:10:33 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomg\tesis\hembras.S0
 Response C3,C4

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C3 | C4 |
|----------|--------|--------|
| C3 | 0.0000 | 3.1154 |
| C4 | 3.1154 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

INDICE GONADOSOMÁTICO HEMBRAS

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 1 17/07/2007 04:11:11 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomg\ltesis\hembras.S0
 Response C5,C6

Analysis of Variance Table

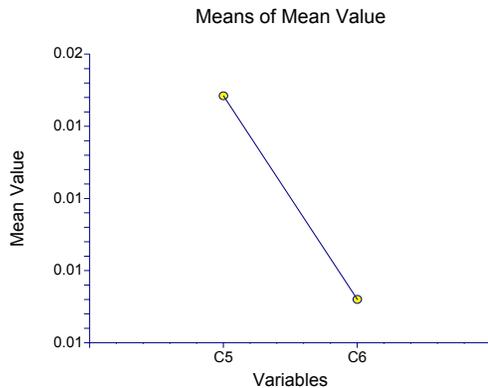
| Source | DF | Sum of Squares | Mean Square | F-Ratio | Prob Level | Power (Alpha=0.01) |
|------------------|----|----------------|--------------|---------|------------|--------------------|
| A (...) | 1 | 6.153328E-05 | 6.153328E-05 | 19.24 | 0.000621* | 0.898763 |
| S(A) | 14 | 4.478009E-05 | 3.198578E-06 | | | |
| Total (Adjusted) | 15 | 1.063134E-04 | | | | |
| Total | 16 | | | | | |

* Term significant at alpha = 0.01

Means and Effects Section

| Term | Count | Mean | Standard Error | Effect |
|------|-------|--------------|----------------|---------------|
| All | 16 | 1.280875E-02 | | 1.201545E-02 |
| A: | | | | |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | 5.3924E-04 | 2.115455E-03 |
| C6 | 5 | 0.0099 | 7.998222E-04 | -2.115455E-03 |

Plots of Means Section



Bonferroni (All-Pairwise) Multiple Comparison Test

Response: C5,C6

Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.198578E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0099 | C5 |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | C6 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 2 17/07/2007 04:11:11 p.m.
Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomgl\tesis\hembras.S0
Response C5,C6

Bonferroni (With Control) Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.198578E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0099 | C5 |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | C6 |

Duncan's Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.198578E-06

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0099 | C5 |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | C6 |

Fisher's LSD Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.198578E-06 Critical Value=2.144787

| Group | Count | Mean | Different From Groups |
|-------|-------|--------------|-----------------------|
| C6 | 5 | 0.0099 | C5 |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | C6 |

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test

Response: C5,C6
Term A:

Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=14 MSE=3.198578E-06 Critical Value=3.033205

Different

| Group | Count | Mean | From Groups |
|-------|-------|--------------|-------------|
| C6 | 5 | 0.0099 | C5 |
| C5 | 11 | 1.413091E-02 | C6 |

Analysis of Variance Report

Page/Date/Time 3 17/07/2007 04:11:11 p.m.
 Database C:\Documents and Settings\AI ... octoradomg\tesis\hembras.S0
 Response C5,C6

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test

| Variable | C5 | C6 |
|----------|--------|--------|
| C5 | 0.0000 | 2.7756 |
| C6 | 2.7756 | 0.0000 |

Regular Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600
 Bonferroni Test: Medians significantly different if z-value > 1.9600

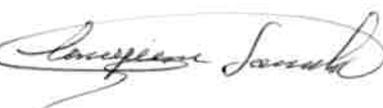
El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud de las
Unidades Iztapalapa y Xochimilco
Aprobó la tesis que presentó

Mario García Lorenzana

El día 17 de octubre de 2007

Sinodales:

Dr. Miguel Betancourt Rule (Presidente) 

Dra. Concepción Sánchez Gómez (Secretaria) 

Dra Ma. del Carmen Uribe Aranzábal (Vocal) *Ma del Carmen Uribe*

Dr. Ricardo López Wilchis (Vocal) 

Dr. Andrés Castell Rodríguez (Vocal) 