



FACULTAD DE CIENCIAS
PROGRAMA DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
MENCION NEUROCIENCIA

RITMOS CIRCADIANOS Y ACTIVIDAD LOCOMOTORA
ANTICIPATORIA EN *Octodon degus*

Mauricio Javier Segura Del Rio

Tesis para optar al grado de
Magíster en Ciencias Biológicas Mención Neurociencia

Director de Tesis:

John Ewer Lothian, Ph.D.

Universidad de Valparaíso

2018



PROGRAMA MAGISTER EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS, MENCIÓN
NEUROCIENCIAS

Programa Magister
NEUROCIENCIA



UNIVERSIDAD DE VALPARAISO

Universidad de Valparaíso

INFORME DE APROBACIÓN

TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Coordinación de Post-Grado de la Facultad de Ciencias que la
Tesis de Magíster presentada por el candidato

Mauricio Javier Segura Del Rio

Ha sido aprobada por la Comisión de Evaluación de Tesis como requisito para
optar al Grado de Magíster en Ciencias Biológicas mención Neurociencia,
en el examen de defensa de Tesis rendido el 31 de Octubre de 2018

Director de Tesis:

John Ewer, Ph.D.

Evaluadores:

Adrián Palacios, Ph.D.

Ramón Sotomayor- Zárata, Ph.D.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a mi familia, en especial a mis viejitos por su constante dedicación en la ardua tarea de ser mis padres, por contar con su apoyo y amor incondicional, Muchas gracias. A mis amigos de siempre y a mis compañeros de Magíster, en especial al grupo de conversación con “concencia” Celindo, Germán y Mario.

Agradecimiento en especial a John por su eterna paciencia, dedicación y apoyo para finalizar de buena manera este proceso. A los profesores que formaron parte de la comisión, Ramón Sotomayor y Adrián Palacios, por su tiempo dedicado en la corrección de esta tesis. Al Programa de Magíster y a todos los profesores que formaron parte de este camino.

ÍNDICE

TABLA DE ABREVIATURAS	6
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	7
RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	11
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS.....	15
1. Objetivo General	15
2. Objetivos Específicos.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
1. Animales	16
2. Protocolos.....	17
2.1 Protocolo A: Efecto sobre la distribución de la actividad luego de restringir el acceso a la rueda giratoria durante 2h en la mitad de la noche.	17
2.2 Protocolos B, C y D: Efecto sobre la distribución de la actividad luego de restringir el acceso a la rueda giratoria en diversas horas del día.....	18
2.3 Protocolo E: Efecto de fotoperíodo de 24 hrs de luz (LL) y acceso restringido a la rueda giratoria durante 2 horas al día sobre la distribución de la actividad.....	18
3. Adquisición de datos y registro.....	19
4. Análisis de datos	20

4.1 Nivel de actividad.....	20
4.2 Índice de diurnidad (ID).....	20
4.3 Actividad locomotora anticipatoria (LAA).....	21
4.4 Ingesta de alimento	22
RESULTADOS.....	23
1. Individuos <i>Octodon degus</i> expresan una diversidad de cronotipos en presencia o en ausencia de rueda giratoria y bajo distintos fotoperíodos.	23
2. Restringir el acceso a la rueda giratoria a un horario determinado indujo actividad locomotora anticipatoria (LAA) solo en algunos individuos <i>Octodon degus</i>	29
3. Restringir el acceso a la rueda giratoria afecta el tiempo de utilización de la misma y los kilómetros recorridos.....	31
4. La ingesta de alimento se ve alterada en individuos <i>Octodon degus</i> dependiendo del acceso a la rueda giratoria.	35
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
FIGURAS Y TABLAS.....	56

TABLA DE ABREVIATURAS

A_e: Nivel de actividad en la escotofase.

A_f: Nivel de actividad en la fotofase.

DD: *Dark-dark condition* (condición de oscuridad constante).

ID: Índice de diurnalidad.

LAA: *Locomotor anticipatory activity* (actividad locomotoria anticipatoria).

LD: *Light-dark condition* (condición de luz y oscuridad).

R[-]: Condición sin acceso a rueda giratoria.

R[+]: Condición con acceso a rueda giratoria.

rR[+]: Condición con acceso restringido a rueda giratoria.

SCN: *Suprachiasmatic nucleus* (núcleo supraquiasmático).

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Actogramas de los degus 9 _Z y 5 _Z en el protocolo B.....	56
Figura 2: Actogramas de los degus 7 _Z y 28 _{O2} en el protocolo B.....	57
Figura 3: Actogramas de los degus 89 _{F2} y 71 _{F2} en el protocolo B.....	58
Figura 3 (continuación): Actograma del degu 55 _{O2} en el protocolo B.....	59
Figura 4: Actogramas de los degus 9 _Z y 7 _Z en el protocolo A.....	60
Figura 4 (continuación): Actogramas de los degus 5 _Z y 89 _{F2} en el protocolo A.....	61
Figura 4 (continuación): Actograma del degu 28 _{O2} en el protocolo A.....	62
Figura 5: Actogramas de los degus 71 _{F2} y 55 _{O2} en el protocolo A.....	63
Figura 6: Actograma del degu 5 _Z en el protocolo D.....	64
Figura 7: Actogramas de los degus 9 _Z y 7 _Z en el protocolo C.....	65
Figura 8: Actogramas de los degus 9 _Z y 5 _Z en el protocolo E.....	66
Figura 8 (continuación): Actogramas de los degus 55 _{O2} y 89 _{F2} en el protocolo E.....	67
Figura 9: Actogramas de los degus 7 _Z y 28 _{O2} en el protocolo E.....	68
Figura 10: Actogramas (SR) de los degus 7 _Z y 89 _{F2} en el protocolo A.....	69
Figura 10: (continuación): Actograma (SR) del degu 9 _Z en el protocolo A.....	70
Tabla 1: Porcentaje de Actividad Día vs Noche en protocolo B.....	71
Tabla 2: Índices de Diurnalidad (ID) obtenidos en protocolo B.....	71
Tabla 3: Índices de Diurnalidad (ID) obtenidos en protocolo C.....	71
Tabla 4: Índices de Diurnalidad (ID) obtenidos en protocolo D.....	71

Tabla 5: Porcentaje de Actividad Día vs Noche en protocolo A.....	71
Tabla 6: Índices de Diurnidad (ID) obtenidos en protocolo A.....	72
Tabla 7: Porcentaje de Actividad Día vs Noche en protocolo D.....	72
Tabla 8: Porcentaje de Actividad Día vs Noche en protocolo C.....	72
Tabla 9: Índices de Diurnidad (ID) obtenidos en protocolo E.....	72
Tabla 10: Diferencia (%) en el tiempo de uso de la rueda al pasar de R[+] a rR[+].....	73
Tabla 11: Diferencia (%) de los Km recorridos por hora al pasar de R[+] a rR[+].....	73
Tabla 12: Porcentaje de Actividad Día vs Noche en protocolo D.....	73
Tabla 13: Porcentaje de alimento sobrante en protocolo A.....	74
Tabla 14: Porcentaje de alimento sobrante en protocolo B.....	74
Tabla 15: Porcentaje de alimento sobrante en protocolo C.....	74
Tabla 16: Porcentaje de alimento sobrante en protocolo D.....	74
Tabla 17: Porcentaje de alimento sobrante en protocolo E.....	74

RESUMEN

En la mayoría de los animales, el comportamiento y la fisiología se expresan con una ritmicidad diaria, generada internamente por un marcapasos circadiano. En mamíferos, el sistema circadiano posee un oscilador central localizado en el núcleo supraquiasmático (SCN). Tanto estímulos fóticos como no fóticos pueden afectar la fase, y, en menor grado, el período, de esta ritmicidad. Diferentes estudios han reportado la aparición de ritmos de actividad locomotora anticipatoria (LAA) en diversas especies y ante diferentes *Zeitgebers* fóticos y no fóticos. Debido a las características de la LAA, se presume que su ritmicidad pudiera estar mediada por marcapasos diferentes al SCN. *Octodon degus* es un roedor caviomorfo y precocial que habita la zona central de Chile. En condiciones ecológicas pueden presentar un cronotipo diurno u otro con actividad crepuscular, mientras que en condiciones de laboratorio se ha reportado la aparición de un cronotipo nocturno cuando los animales tienen libre acceso a una rueda giratoria. En el presente estudio se pretendió investigar el efecto de diferentes protocolos de acceso a la rueda giratoria sobre la distribución de actividad locomotora en *Octodon degus*, con especial énfasis en el cambio de fase de la actividad locomotora y la presentación de LAA. Los resultados muestran que existe gran variabilidad en cuanto a la respuesta mostrada por los individuos estudiados. Pese a esta variabilidad, fue posible observar lo siguiente: 1) Algunos individuos pasaron de un cronotipo diurno a uno nocturno al tener acceso a la rueda giratoria, 2) Dar acceso restringido a la rueda giratoria tiene la capacidad de gatillar la presentación de LAA en algunos animales, y 3) Dar acceso libre a la rueda giratoria durante las 24 horas del día en general provoca una disminución de la ingesta de alimento por parte de los animales.

ABSTRACT

In most animals, behavior and physiology are expressed with a daily rhythm, which is generated internally by a circadian pacemaker. In mammals, the circadian system has a central oscillator located in the suprachiasmatic nucleus (SCN). Both photic and non-photoc stimuli can affect the phase, and, to a lesser degree, the period, of this rhythmicity. Various studies have reported the appearance of rhythms of locomotor anticipatory activity (LAA) in different species and in response to different photic and non-photoc Zeitgebers. Due to the characteristics of the LAA it is believed that its rhythmicity could be mediated by pacemakers different from the SCN. *Octodon degus* is a caviomorph and precocial rodent that inhabits the central zone of Chile. Under ecological conditions they may present a diurnal chronotype, under another express crepuscular activity, while under laboratory conditions the appearance of a nocturnal chronotype has been reported when the animals have free access to a running wheel. In the present study we investigated the effect of different running wheel access protocols on the distribution of locomotor activity in *Octodon degus*, with special emphasis on the phase change of locomotor activity and the expression of LAA. The results show that there is great variability in the response expressed by different individuals. Despite this variability, it was possible to observe that: 1) Some individuals changed from a diurnal to a nocturnal chronotype when they had free access to the running wheel, 2) Giving restricted access to the running wheel caused the expression of LAA in some animals, and 3) Free access to the running wheel during 24 hours a day in general causes a decrease in food intake.

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los animales, el comportamiento y la fisiología se organizan en patrones diarios, lo cual representa una adaptación a los cambios de luz y temperatura que ocurren normalmente en el medio ambiente (Blanchong *et al.*, 1999). Estos cambios sistemáticos y predecibles en el medio ambiente crean nichos ecológicos temporales, y la capacidad de anticipar estos cambios es importante para la supervivencia de los animales (Aschoff *et al.*, 1982). Estos ritmos son generados internamente por un marcapasos circadiano (del latín *circa*, “cerca de”, “alrededor de”, y *dies*, “día”).

En mamíferos, el sistema circadiano posee un oscilador central localizado en el núcleo supraquiasmático (SCN, *suprachiasmatic nucleus*), un grupo de neuronas del hipotálamo anterior dorsal al quiasma óptico (Dibner *et al.*, 2010). Diversos estudios han mostrado que lesiones en el SCN llevan a la pérdida de ritmos circadianos tanto en aspectos conductuales tales como ingesta de agua (Stephan y Zucker, 1972), actividad locomotora (Ralph *et al.*, 1990; Stephan y Zucker, 1972) y pérdida del patrón de sueño y vigilia (Baker *et al.*, 2005), así como en mecanismos fisiológicos tales como la liberación de corticosterona (Moore y Eichler, 1972). De la misma manera, se ha demostrado que el implante de SCN restaura la ritmicidad de la actividad locomotora, ya sea en animales que la han perdido a causa de lesiones en el SCN (Ralph *et al.*, 1990) como en aquellos genéticamente arrítmicos (Sujino *et al.*, 2003). Otros estudios revelan que neuronas de SCN, al ser cultivadas *in vitro*, expresan un patrón circadiano de disparo espontáneo (Morin y Allen, 2006). Así como lesiones en el SCN llevan a la pérdida de ritmos circadianos, también es posible inducir una supresión de los ritmos circadianos, ya sea en parámetros

fisiológicos como la temperatura corporal (Eastman y Rechtschaffen 1983) o en parámetros conductuales como la actividad locomotora (Deprés-Brummer *et al.*, 1995), sometiendo a los animales bajo condiciones de luz constante e intensa durante las 24 horas del día.

Si bien las propiedades intrínsecas del marcapasos circadiano son necesarias y suficientes para generar una ritmicidad circadiana en mamíferos (Kas y Edgar, 1999), tanto estímulos fóticos como no fóticos pueden afectar la fase, y, en menor grado, el período, de esta ritmicidad. La sincronización del ritmo circadiano a un estímulo diario se denomina “encarrilamiento” (Pittendrigh, 1981; Takahashi *et al.*, 2001). Estímulos efectivos incluyen el ciclo diario de luz y el de temperatura. Además, cambios diarios de humedad, disponibilidad de alimento e incluso pistas sociales que oscilan en un período de 24 horas pueden sincronizar su actividad. Todas estas señales ambientales que tienen la capacidad de sincronizar o encarrilar el funcionamiento del marcapasos circadiano interno se denominan *Zeitgebers* (“dador de tiempo” en alemán), siendo el ciclo diario luz/oscuridad de 24 horas el más efectivo (Jud *et al.*, 2005). Por otro lado existen condiciones bajo las cuales algunos ritmos diarios se observan en fase con un determinado estímulo diario, mientras que el SCN continúa dentro de su fase de actividad intrínseca. Este fenómeno se denomina enmascaramiento y permite la rápida adaptación de ritmos biológicos a eventos esporádicos o impredecibles (Vivanco *et al.*, 2009), ya que al actuar río abajo del marcapasos circadiano no requiere de un cambio de fase a nivel del SCN (Jud *et al.*, 2005).

Finalmente, diferentes estudios han reportado la aparición de ritmos de actividad locomotora anticipatoria (LAA, *Locomotor Anticipatory Activity*) en diversas especies y ante diferentes estímulos fóticos y no fóticos. Se le denomina “anticipatoria” ya que se produce *previo* a la exposición del animal al estímulo en cuestión (Verwey *et al.*, 2013). Se

ha informado la aparición de este tipo de ritmos cuando el estímulo tiene directa relación con el estado metabólico del animal. Así, se ha registrado LAA en ratas, ratones o hamsters al ser sometidos a protocolos experimentales que limitan la ingesta de calorías a una hora específica del día (Landry et al., 2012), al someterlos a acceso restringido al agua (Mistlberger, 1992), sal (Rosenwasser *et al.*, 1988) y alimentos de alto contenido calórico (Angeles-Castellanos *et al.*, 2008; Mistlberger y Rusak, 1987). De igual manera, se ha reportado LAA ante estímulos que no afectan directamente el estado metabólico del animal, pero que tienen la facultad de estimular el sistema de recompensa, sean drogas psicoestimulantes de abuso (Jansen *et al.*, 2012; Kosobud *et al.*, 1998) o apareamiento (Landry et al., 2012) en horarios diarios establecidos. De manera interesante, lesiones en el SCN no afectan la manifestación de este tipo de LAA (Boulos *et al.*, 1980; Stephan y Zucker, 1972), lo cual sugiere que otras regiones del cerebro y/u órganos y tejidos periféricos poseen una capacidad intrínseca para generar ritmos circadianos. En particular, estas observaciones sugieren que los ritmos de LAA podrían ser generados por estímulos que activan los circuitos neuronales de recompensa, y que los marcapasos circadianos que controlan los ritmos de LAA podrían estar ubicados en los circuitos neuronales que median la recompensa o bien podrían ser encarrilados por mecanismos neuronales de recompensa.

Octodon degus es un roedor de mediano tamaño, caviomorfo, precocial pero de desarrollo lento que habita la zona central de Chile (Fulk, 1976). Características como la facilidad de su crianza en laboratorio, lento desarrollo, longevidad y hábitos diurnos han hecho de *Octodon degus* un atractivo modelo para la cronobiología (Lee, 2004). Se ha descrito que, en condiciones ecológicas, pueden presentar un cronotipo diurno u otro con actividad crepuscular, dependiendo de la duración de la fotofase, la temperatura del

ambiente y la disponibilidad de alimento (Fulk, 1976; Meunier y Fishcer, 1985). Pese a lo anterior, en condiciones de laboratorio, se ha reportado la aparición de un cronotipo nocturno cuando los animales son sometidos a diferentes condiciones experimentales, tales como disponibilidad de alimento sólo durante la escotofase (Vivanco *et al.*, 2010), altas temperaturas durante la fotofase (Vivanco *et al.*, 2010) o libre acceso a una rueda giratoria (Aspé, 2011; Kas y Edgar, 1999; Ocampo-Garcés *et al.*, 2005; Vivanco *et al.*, 2007).

Se ha reportado que en condiciones de laboratorio, el acceso a la rueda giratoria es capaz de gatillar un cambio de fase en la actividad locomotora en el ratón rayado del Nilo, *Arvicanthis niloticus*. Así, individuos que presentan cronotipo diurno modifican su patrón diario de actividad volviéndose nocturnos (Blanchong *et al.*, 1999; Katona y Smale, 1997). Este efecto también ha sido observado en *Octodon degus* (Aspé, 2011; Kas y Edgar, 1999), y es acompañado por un aumento notable en la actividad locomotora, cubriendo distancias de hasta 9 kilómetros por noche (Aspé, 2011). Debido al profundo efecto que tiene el acceso a la rueda giratoria sobre la distribución y sobre todo sobre la intensidad de la actividad locomotora, es razonable proponer que áreas del cerebro relacionadas con la recompensa se encuentren involucradas en este notable cambio de fase y nivel de actividad (Castillo-Ruiz *et al.*, 2010).

Dados estos antecedentes, parece interesante realizar un estudio preliminar para evaluar si la exposición de individuos *Octodon degus* a la rueda giratoria sería capaz de inducir LAA cuando esta sólo se encuentra disponible en una ventana temporal restringida, por ejemplo, las dos primeras horas de la escotofase. De acuerdo a la evidencia encontrada en la literatura, proponemos que el acceso restringido a rueda giratoria sería capaz de inducir LAA en individuos *Octodon degus*.

HIPÓTESIS

Individuos de *Octodon degus* presentan actividad locomotora anticipatoria ante la rueda giratoria cuando la disponibilidad a esta se restringe a un determinado período de tiempo.

OBJETIVOS

1. *Objetivo General*

Estudiar el efecto de diferentes protocolos de acceso a rueda giratoria sobre la distribución de la actividad locomotora en *Octodon degus*.

2. *Objetivos Específicos*

- 2.1 Caracterizar el cronotipo de individuos de *Octodon degus* de acuerdo a la distribución de su actividad locomotora sin acceso a una rueda giratoria.
- 2.2 Evaluar el efecto del uso de rueda giratoria sobre el cronotipo de individuos de *Octodon degus* de acuerdo a la distribución de su actividad locomotora.
- 2.3 Investigar los efectos de la disponibilidad restringida a la rueda giratoria sobre la distribución de la actividad locomotora en individuos *Octodon degus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Animales

Para la realización de este estudio se utilizaron 7 individuos *Octodon degus*, 5 machos y 2 hembras, de 2 a 3 años de edad: 3 individuos machos de 3 años de edad (degus 9_Z, 7_Z, 5_Z); 2 individuos machos de 2 años de edad (degus 89_{F2} y 71_{F2}); y 2 individuos hembras de 2,5 años de edad (degus 55_{O2} y 28_{O2}), pertenecientes a la colonia que es mantenida en el Bioterio de la Universidad de Valparaíso. Estos animales fueron mantenidos de forma individual en jaulas de 40 x 40 x 50 cm, todas equipadas con ruedas giratorias, las cuales contaban con un dispositivo que permitió trabarlas y destrabarlas de forma remota. De esta manera fue posible generar las condiciones experimentales con acceso (R[+]), con acceso restringido (rR[+]) y sin acceso (R[-]) a rueda giratoria, respectivamente. Cada una de las jaulas fue dispuesta dentro de una caja que contaba con aislamiento tanto acústico como lumínico, evitando así la influencia de estos estímulos sobre los animales a estudiar. Las jaulas fueron mantenidas en una sala especialmente acondicionada en el Bioterio Central de la Universidad de Valparaíso. La sala estaba equipada con aire acondicionado, y cada caja incluía un sistema de ventilación forzado que extraía el aire de la caja sin permitir la entrada de luz. La temperatura de la sala de cronobiología y dentro de cada una de las cajas de aislamiento se monitoreó mediante el uso de un iButton (® Maxim Integrated Products). Durante nuestros experimentos, la temperatura se mantuvo entre 18 y 23°C. Cada caja estaba equipada con un sistema independiente de iluminación que consistía de un tubo fluorescentes Philips de 14W/T5/Blanco frío, el cual producía una iluminación de 380±25 lux, y cuyo encendido y

apagado fue programado mediante el uso de un temporizador digital externo. Tanto el agua como la comida fueron suministradas *ad libitum* y sin restricción horaria. En el caso del alimento cada individuo fue provisto con 84 gr de alimento para un período de 7 días. El alimento utilizado corresponde a una dieta PROLAB[®] RMH 3000, producida por la empresa LabDiet. Respecto al agua esta se dispuso en 2 bebederos de 250 mL cada uno; el recambio de estas y la limpieza de jaulas (realizado cada 7 días) se efectuó en horarios aleatorios para evitar que la manipulación tuviese un efecto de encarrilamiento.

Teniendo en cuenta que se trata de un estudio preliminar y de tipo conductual en una especie, el cual no pretende entregar valores estadísticos representativos de una población, sino caracterizar el comportamiento de individuos *O. degus*, el N° de animales se determinó considerando por una parte la disponibilidad de animales y por otra las capacidades físicas de la sala de cronobiología, la cual cuenta con 7 sistemas para realizar experimentos de cronobiología con roedores.

2. Protocolos

En los diferentes ensayos realizados se monitoreó la actividad locomotora de *Octodon degus* bajo diferentes condiciones, tanto de luz como de disponibilidad de rueda giratoria. Los protocolos empleados fueron los siguientes:

2.1 Protocolo A: Efecto sobre la distribución de la actividad luego de restringir el acceso a la rueda giratoria durante 2hrs en la mitad de la noche.

(a) Primera semana LD 12:12 R[+]: Durante estos primeros 7 días los animales tuvieron acceso a la rueda giratoria durante las 24 hrs del día.

(b) Segunda y tercera semana LD 12:12 rR[+]: Durante estos 14 días los animales tuvieron acceso restringido a la rueda giratoria, la cual se activó únicamente durante 2 hrs en la mitad de la noche.

2.2 Protocolos B, C y D: Efecto sobre la distribución de la actividad luego de restringir el acceso a la rueda giratoria a determinadas horas del día.

(a) Primera semana LD 12:12 R[-]: Durante estos primeros 7 días los animales no tuvieron acceso a la rueda giratoria en ningún momento.

(b) Segunda semana LD 12:12 R[+]: Durante estos 7 días los animales tuvieron acceso a la rueda giratoria durante las 24 hrs del día.

(c) Tercera semana LD 12:12 rR[+]: Durante estos 7 días los animales tuvieron acceso restringido a la rueda giratoria, la cual se activó únicamente: durante 2 hrs previas a la llegada de la noche (B), durante 2 hrs a la mitad del día (C), y durante 1 hr a la mitad del día (D).

2.3 Protocolo E: Efecto de fotoperíodo de 24 hrs de luz (LL) y acceso restringido a la rueda giratoria durante 2 hrs al día sobre la distribución de la actividad.

(a) Primeras 5 semanas: LL 12:12 R[-] (sin acceso a la rueda giratoria).

(b) Sexta y Séptima semanas LL 12:12 R[+] (acceso libre a la rueda giratoria durante las 24 hrs del día).

(c) Octava semana LL 12:12 rR[+]: acceso restringido a la rueda giratoria durante 2 hrs. Estas 2 hrs se establecieron entre las 12:00 hrs y 14:00 hrs, lo que correspondió a la mitad del día mientras los animales se encontraban bajo condición LD 12:12.

Los protocolos LL 12:12 son utilizados de forma rutinaria en estudios de cronobiología en los cuales se pretende inducir aritmicidad en diversos patrones conductuales (Deprés-Brummer et al., 1995), como por ejemplo actividad locomotora, o en patrones fisiológicos como la temperatura corporal (Eastman & Rechtschaffen, 1983). El objetivo de incorporar este tipo de protocolo fue separar y diferenciar los patrones de actividad locomotora controlados por el SCN de aquellos generados por estímulos diferentes a patrón de luz y oscuridad que pudieran generarse en marcapasos diferentes al SCN.

Cuando los animales estuvieron bajo la condición LD 12:12, el encendido y apagado de las luces se programó para las 07:00 hrs y las 19:00 hrs respectivamente.

3. Adquisición de datos y registro

Para registrar la actividad locomotora de los degus, las jaulas fueron equipadas de un sensor de aceleración para medir la actividad en condición R[-] (sin acceso a rueda giratoria) y de un contador magnético de vueltas de rueda para medir la actividad locomotora en condición R[+] (con acceso a rueda giratoria). Así, se pudo registrar en todo momento la aceleración dada por la actividad ambulatoria de los degus y además las revoluciones de la rueda giratoria cuando esta se encontraba disponible. Cuando el protocolo era R[-], el sistema de adquisición de señales registró unidades arbitrarias de aceleración censadas a partir de la vibración de la jaula, esto mediante un algoritmo de integración por minuto del vector aceleración en la banda 1,2 Hz – 8,5 Hz (Pi Tecnologías S.A., Santiago de Chile). Cuando el protocolo era R[+], cada vuelta de la rueda giratoria cerró un circuito entre un imán situado en la rueda y otro en el techo de la jaula, y este evento fue registrado y almacenado por el sistema diseñado por Pi Tecnologías S.A.,

Santiago de Chile. Todos los registros se realizaron con una frecuencia de muestreo de 1 min. Los datos se almacenaron en un disco duro externo al cual se podía acceder directamente o remotamente vía una IP.

4. Análisis de datos

Con los registros de la actividad locomotora obtenidos en los diversos protocolos aplicados se determinaron los siguientes parámetros:

4.1 Nivel de actividad: Bajo la condición R[-] el nivel de actividad fue dado exclusivamente por la vibración registrada por el sensor de vibración. Bajo la condición R[+], el nivel de actividad promedio fue medido como el número de metros recorridos por el animal (calculados como el número de vueltas de la rueda giratoria multiplicado por el diámetro de esta en centímetros y dividido por 100). Además, cuando los degus estaban en condición R[+] y haciendo uso de la rueda giratoria, no sólo se registró las vueltas de la rueda giratoria sino que también la vibración de la jaula, esto debido a que los sensores de vibración de las jaulas se encontraban activos en todo momento. Lo anterior permitió contar con registros en los cuales se integró tanto la actividad ambulatoria como la actividad en la rueda giratoria.

4.2 Índice de diurnalidad (ID): Se obtuvo calculando la diferencia entre la actividad registrada en la fotofase y la actividad registrada en la escotofase, dividida por la actividad total:

$$ID = \frac{Af - Ae}{Af + Ae}$$

Donde Af corresponde a la actividad en la fotofase y Ae corresponde a la actividad en la escotofase. IDs superiores a 0,2 e inferiores a -0,6 se usaron como criterio para clasificar a los animales como diurnos o nocturnos, respectivamente (P Vivanco et al., 2009).

4.3 Actividad locomotora anticipatoria (LAA): Para determinar la LAA se calculó la actividad promedio que ocurrió en el intervalo de 2 hrs antes de la hora programada de acceso a la rueda giratoria en bloques de 7 días, en cada una de las diversas condiciones experimentales del estudio. También se calculó la razón entre esta actividad promedio y la actividad promedio que se produjo a la misma hora durante los días en que no tuvieron acceso a la rueda giratoria. Debido a que la actividad en la rueda es muy intensa, los registros obtenidos son de gran amplitud, lo cual tiende a opacar los registros que se obtienen de la vibración producto del movimiento del animal fuera de la rueda. A fin de poder evaluar de manera correcta la expresión de LAA, a la hora de hacer los actogramas se procedió a sustraer de los datos los registros producto de vibración de la jaula cuando los individuos hicieron uso de la rueda giratoria. Así se obtuvo sólo el registro de la vibración producto del movimiento del animal fuera de la rueda a pesar de que los animales tuvieran acceso a la rueda. A estos actogramas se le denominó “Actogramas (SR)”.

4.4 Ingesta de alimento: A fin de conocer el efecto de los diferentes protocolos de acceso a la rueda giratoria sobre la ingesta de alimento se comparó la cantidad de alimento sobrante (en g) al finalizar una semana bajo los distintos protocolos utilizados *versus* la cantidad de alimento proporcionado al iniciar la semana.

RESULTADOS

1. Individuos Octodon degus expresan una diversidad de cronotipos en presencia o en ausencia de rueda giratoria y bajo distintos fotoperíodos.

Los resultados obtenidos muestran que existe una amplia variedad de cronotipos bajo las diferentes condiciones experimentales utilizadas. Esta variedad se presenta incluso cuando los mismos individuos son sometidos a diferentes condiciones experimentales.

Cuando se sometió por primera vez a los degus a una condición sin acceso a la rueda giratoria, es decir LD 12:12 R[-], la cual se presentó la primera semana del protocolo B, sólo el degu 9_Z mostró una preferencia marcada por la fotofase (Figura 1A), con un 61% de la actividad en la fotofase (Tabla 1) y un ID de 0,21 (Tabla 2), siendo por ello clasificado como diurno en esta condición. Algo similar pero no tan marcado se observó en el degu 5_Z el cual presentó un ID de 0,08 (Tabla 2) considerándose también como diurno (Figura 1B). De los individuos restantes, tanto el degu 7_Z como el degu 28_{O2} mostraron preferencia por la escotofase (Figura 2; A y B), con IDs = -0,14 y -0,11 respectivamente (Tabla 2). Mientras que los degus 89_{F2}, 71_{F2} y 55_{O2} (Figura 3; A, B y C) presentaron IDs cercanos a 0 (Tabla 2) no siendo posible asignarles un cronotipo diurno o nocturno. Una situación similar se observó cuando se sometió a los individuos a la condición LD 12:12 R[-] la primera semana del protocolo C (Tabla 3) y D (Tabla 4).

Bajo la condición LD 12:12 R[+] programada en la primera semana del protocolo A, 5 de los mismos 7 individuos mostraron una marcada preferencia por la fase nocturna del ciclo. Así los degus 9_Z, 7_Z, 5_Z, 89_{F2} y 28_{O2} (Figura 4; A, B, C, D y E, respectivamente) mostraron sobre un 60% de su actividad locomotora en la escotofase (Tabla 5) con IDs de

-0,65; -0,52; -0,40; -0,47 y -0,23 respectivamente como promedio para el período de 7 días (Tabla 6), clasificándolos por ello como cronotipos nocturnos bajo esa condición. Un ejemplo claro de esto es el degu 9_Z (Figura 4A) el cual presentó un 84% de su actividad en la escotofase con un ID de -0,65 como promedio en 7 días. Por otro lado, los degus 71_{F2} y 55_{O2} (Figura 5; A y B respectivamente) mostraron un nivel de actividad similar durante la fotofase y la escotofase bajo la condición LD 12:12 R[+], presentando ambos IDs cercanos a 0 como promedio para el período de 7 días (Tabla 6), por lo que no es posible atribuirles un cronotipo diurno o nocturno basado en diferencias entre los niveles de actividad expresados en las horas de luces encendidas *versus* aquellos observados durante las horas de luces apagadas.

Si bien estos cronotipos se mantuvieron relativamente estables en los siguientes protocolos en donde los individuos se sometieron a la condición LD 12:12 R[+], algunos individuos mostraron un cambio de cronotipo. Un ejemplo de ello es el degu 71_{F2} (Figura 3B) que en condición LD 12:12 R[+] del protocolo A no mostró una preferencia marcada por la fotofase ni por la escotofase (ID 0,03), pero que bajo la condición LD 12:12 R[+] del protocolo B mostró sobre el 60% de su actividad en la escotofase (Tabla 1) con un ID de -0,24 (Tabla 2), siendo por ello clasificado como nocturno bajo esta condición. Otro individuo que mostró un cambio de cronotipo fue el degu 5_Z, el cual bajo la condición LD 12:12 R[+] del protocolo A, mostró un cronotipo marcadamente nocturno (Figura 4C) con un ID de -0,4 (Tabla 6), pero que bajo la misma condición en el protocolo D presentó un 67% (Tabla 7) de su actividad en la fotofase con un ID de 0,35 (Tabla 4), siendo por ello clasificado como cronotipo diurno bajo esta condición (Figura 6A).

Al pasar a la condición de acceso restringido a la rueda giratoria, es decir LD 12:12 rR[+], también se obtuvieron resultados variables dependiendo del individuo y del momento del ciclo en el cual se habilitó el acceso a la rueda giratoria. En el protocolo A, en donde los animales tuvieron acceso a la rueda giratoria durante 2 hrs a la mitad de la noche, todos los animales en estudio mostraron una marcada preferencia por la fase nocturna del ciclo, desarrollando sobre el 60% de su actividad locomotora durante la escotofase (Tabla 5) con IDs entre -0,1 y -0,57 (Tabla 6; Figuras 4 y 5).

Cuando la condición LD 12:12 rR[+] fue tal que el acceso a la rueda giratoria se permitió por dos horas antes del comienzo de la noche (protocolo B), en algunos individuos se observó un leve desplazamiento de su actividad locomotora para la fase diurna del ciclo. Así, encontramos individuos como el degu 5_Z que bajo la condición LD 12:12 R[-] presentó un cronotipo más bien diurno con un ID de 0,08, (53% de su actividad en fotofase; Tabla 1) el que posteriormente al estar bajo la condición LD 12:12 R[+] pasó a expresar un cronotipo clasificable como nocturno con un ID de -0,10 (54% de su actividad en escotofase; Tabla 1) pero que al ser sometido a la condición LD 12:12 rR[+] volvió a moverse al nicho diurno con un ID de 0,22 (Tabla 2; Figura 1B). Otro caso con un cambio más notable aún fue el degu 9_Z que al no tener acceso a la rueda giratoria presentó un cronotipo diurno con un ID de 0,21, el que posteriormente al estar bajo la condición LD 12:12 R[+] pasó a expresar un cronotipo nocturno con un ID de -0,28 pero que al ser luego sometido a la condición LD 12:12 rR[+] volvió a moverse al nicho diurno con un ID de 0,14 (Tabla 2; Figura 1A). Sin embargo, este cambio no se observó en todos los individuos. Por ejemplo, el degu 55_{O2} no mostró mayor cambio bajo ninguna de las condiciones experimentales del protocolo B presentando IDs cercanos a 0 bajo LD 12:12 R[-] y LD

12:12 R[+], desplazando sólo levemente su actividad a la fotofase bajo LD 12:12 rR[+] con un ID de 0,08 (Tabla 2; Figura 3C).

Permitir el acceso a la rueda giratoria durante 2 horas en la mitad del día (protocolo C) produjo 2 situaciones destacables. Por un lado la del degu 9_Z, el cual bajo la condición LD 12:12 R[-] presentó un ID de 0,19, calificándolo como diurno con un 62% de su actividad en fotofase (Tabla 8), en tanto que al pasar a la condición LD 12:12 R[+] mostró un comportamiento nocturno con un ID de -0,3, el que posteriormente volvió a ser diurno bajo la condición LD 12:12 rR[+] con un ID de 0,16 (Tabla 3; Figura 7A). Así, al no tener acceso a la rueda giratoria o tenerla con acceso restringido a la mitad del día, este animal desarrolló su actividad preferentemente durante la fotofase, pero cuando tuvo acceso libre a la rueda giratoria durante todo el día cambió su cronotipo, concentrando su actividad principalmente en la escotofase. Este comportamiento es similar a lo visto en el mismo individuo durante el protocolo B (Tabla 2; Tabla 7; Figura 1A). En el caso del degu 7_Z, durante el protocolo C, este individuo tuvo un comportamiento bastante similar al observado en el protocolo B (Figura 2A), mostrando un cronotipo consistentemente nocturno bajo las 3 condiciones del protocolo C, con IDs de -0,25; -0,30 y -0,30 para las condiciones LD 12:12 R[-], LD 12:12 R[+] y LD 12:12 rR[+] respectivamente (Tabla 3; Figura 7B).

Dentro de los protocolos utilizados se expuso a los degus a la condición de luz constante las 24 horas del día lo cual, si la intensidad es suficientemente alta, causa la degradación paulatina de la ritmicidad, lográndose eventualmente un fenotipo arrítmico (Deprés-Brummer *et al.*, 1995). Sin embargo, nuestros resultados muestran que a pesar de haber estado durante 5 semanas en condición de luz constante y sin acceso a la rueda

giratoria, ninguno de los degus desarrolló un fenotipo que pudiera considerarse arrítmico. Ello se debe seguramente a que la intensidad de la luz no fue suficiente para causar arritmicidad. A pesar de esto, los resultados obtenidos bajo estas condiciones fueron interesantes. Así, bajo la condición en que los individuos no tuvieron acceso a la rueda giratoria (LL 12:12 R[-]), los degus 9_Z, 5_Z y 55_{O2} (Figura 8; A, B y C, respectivamente) mostraron un cronotipo que se podría clasificar como diurno (con respecto a la fase de la luz antes de ingresar al protocolo LL) con IDs semanales entre 0,08 y 0,21 (Tabla 9). Esta situación se mantuvo durante las 5 semanas que los individuos estuvieron bajo esta condición. Otro individuo, el degu 89_{F2} mostró un comportamiento levemente diferente y a pesar de desarrollar su actividad principalmente durante el día fue disminuyendo su índice de diurnalidad semana a semana comenzando con un ID de 0,2 y finalizando la quinta semana con un ID de 0,01 (Tabla 9), situación que se revierte al darle acceso a la rueda, en donde vuelve a concentrar la mayor parte de su actividad en (lo que fue) el día (Figura 8D). Un comportamiento opuesto mostraron los degus 7_Z y 28_{O2} ya que comenzaron el ensayo con un comportamiento más bien “nocturno”, desarrollando la mayor parte de su actividad en (lo que fue) la noche, pero a medida que avanzaron los días su actividad locomotora comenzó a distribuirse uniformemente entre los períodos que fueron día y noche antes del inicio del protocolo LL (Figura 9 A y B; IDs de -0,02 y -0,06 respectivamente) terminando el período LL 12:12 R[-] con un ID de 0,01 en ambos casos (Tabla 9).

De manera similar a lo que se obtuvo bajo la condición LL 12:12 R[-], en donde todos los individuos terminaron trasladando su actividad a (lo que fue) el día, a pesar de que algunos comenzaron con un cronotipo “nocturno” desarrollando la mayor parte de su actividad en (lo que fue) la noche, al dar acceso a la rueda giratoria, ya sea durante las 24

hrs del día (2 semanas) o restringida a 2 hrs a la mitad del día (1 semana), todos los individuos terminaron trasladando su actividad a la fase diurna del ciclo (degu 9_Z ID = 0,23; degu 7_Z ID = 0,19; degu 5_Z ID = 0,38; degu 89_{F2} ID = 0,35; degu 55_{O2} ID = 0,39 y degu 28_{O2} ID = 0,11). Ver figuras 8 y 9.

Como se describe en la sección “*Materiales y Métodos*”, la temperatura tanto de la sala de cronobiología como de cada una de las cajas de aislamiento se monitoreó mediante el uso de iButton (® Maxim Integrated Products). La sala fue provista con 4 puntos de medición de temperatura, en tanto que cada una de las 7 cajas de aislamiento contó con un dispositivo de medición de temperatura, resultando en un total de 11 puntos diferentes de registro de temperatura. Los resultados de estas mediciones indican que las temperaturas registradas estuvieron entre los 18°C y 23°C, siendo el rango en la sala entre 18°C y 21,5°C y al interior de las cajas ente 20°C y 23°C, existiendo de forma constante una diferencia de $\pm 2^\circ\text{C}$ entre la temperatura de la sala y la temperatura al interior de las cajas,

Durante el desarrollo del protocolo **A** la temperatura al interior de la sala fluctuó entre los 18°C y los 20,5°C en tanto que al interior de las cajas de aislamiento la temperatura registrada estuvo entre los 19,5°C y 22°C, registrándose una diferencia de $\pm 0,6^\circ\text{C}$ entre cajas. Para el protocolo **B** la temperatura registrada al interior de la sala fluctuó entre los 19°C y los 21°C en tanto que al interior de las cajas de aislamiento la temperatura registrada estuvo entre los 21°C y 22,5°C, con una diferencia de $\pm 0,4^\circ\text{C}$ entre cajas. Cuando los degus fueron sometidos al protocolo **C** la temperatura de la sala se registró entre los 18,5°C y los 21°C mientras que en las cajas de aislamiento se registraron temperaturas entre los 21,5°C y 23°C, con una diferencia entre cajas de $\pm 0,6^\circ\text{C}$. Las temperaturas registradas durante el protocolo **D** al interior de la sala estuvieron entre 20°C y

21,5°C y dentro de las cajas de aislamiento esta fluctuó entre 21,5°C y 22,5°C con una diferencia de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ entre cajas. Durante el desarrollo del protocolo E la temperatura al interior de la sala fluctuó entre los 19,5°C y los 21,5°C en tanto que al interior de las cajas de aislamiento la temperatura registrada estuvo entre los 22°C y 23°C, registrándose una diferencia de $\pm 0,5^\circ\text{C}$ entre cajas.

Dado que en todos los protocolos la diferencia de temperatura entre las cajas de aislamiento no superó los 0,6°C podemos inferir que la variabilidad de respuestas observadas en los animales no se debería a esta variable.

2. Restringir el acceso a la rueda giratoria a un horario determinado indujo actividad locomotora anticipatoria (LAA) solo en algunos individuos Octodon degus.

Los registros obtenidos cuando los individuos estuvieron bajo una condición en donde el acceso a la rueda giratoria fue restringido a un determinado período de tiempo variaron según el horario de acceso utilizado.

Así, por ejemplo, al restringir el acceso a la rueda giratoria a dos horas en la mitad de la noche (entre las 24:00 y las 02:00 hrs), lo que se programó a partir de la segunda semana del protocolo A, 2 de los 7 individuos mostraron un comportamiento que se podría clasificar como LAA. Un caso es el degu 7z, en el cual se pudo observar a partir del segundo día bajo la condición LD 12:12 rR[+] (noveno día del protocolo A) un aumento en su actividad locomotora aproximadamente 1 hora previo al acceso a la rueda giratoria, lo cual se mantuvo por aproximadamente 2 hrs posterior al bloqueo de la rueda giratoria. Este efecto se observó de manera consistente hasta el día 14 luego de lo cual se presentó una disminución paulatina de la actividad ambulatoria general del degu (Figura 10A). Algo

similar se observó en el degu 89_{F2} en donde a partir del día 9 existió un aumento de la actividad locomotora previo a la activación de la rueda giratoria (Figura 10B). Algo particularmente interesante se observó en el degu 9_z. Este animal cortó los cables que alimentaban el sistema que permitía destrabar la rueda giratoria, por lo cual a partir del día 16 pasó a estar sin rueda giratoria las 24 horas del día. Bajo estas condiciones mostró un aumento considerable de su actividad locomotora coincidente con el horario en el cual debía tener acceso a la rueda giratoria durante los restantes 7 días (Figura 10C). Si bien este experimento no fue programado, representa un claro ejemplo que demuestra que esta especie es capaz de mostrar una notable LAA que persiste durante varios días, aún cuando no se observa en la mayoría de los individuos. En los otros 4 degus no se observó ningún efecto sobre su actividad locomotora atribuible al hecho de tener acceso restringido a la rueda giratoria.

En los siguientes protocolos en los cuales el acceso a la rueda giratoria estuvo restringido a dos horas previo a la llegada de la noche (protocolo B), dos horas a la mitad del día (protocolo C y E) o una hora a la mitad del día (protocolo D), no se observó ningún efecto que pueda relacionarse con la presentación de LAA.

Es interesante señalar que, al dar acceso restringido a la rueda giratoria durante la fotofase, la distribución de la actividad de los degus se mantuvo igual respecto a la que se observó cuando no tuvieron acceso a la rueda giratoria, es decir aquellos degus que al estar bajo la condición LD 12:12 R[-] presentaron un cronotipo diurno lo mantuvieron bajo la condición LD 12:12 rR[+]. Ejemplo de ello es el degu 9_z, el cual durante el protocolo B bajo la condición LD 12:12 R[-] presentó un cronotipo diurno con un ID de 0,21, y que bajo condición LD 12:12 R[+] mostró un cambio de fase pasando a un cronotipo nocturno

con un ID de -0,28, al estar en condición LD 12:12 rR[+] durante el día mostró nuevamente un cronotipo diurno con un ID de 0,14 (Figura 1A; Tabla 2). Algo similar se observó en aquellos individuos que comenzaron con un cronotipo nocturno bajo la condición LD 12:12 R[-], y que al pasar a la condición LD 12:12 rR[+] con acceso a la rueda giratoria durante el día mantuvieron su cronotipo nocturno. Esto se puede observar en el degu 28_{O2}, el cual durante el protocolo B presentó un cronotipo consistentemente nocturno durante las 3 semanas con IDs de -0,11; -0,26 y -0,19 para las condiciones LD 12:12 R[-], LD 12:12 R[+] y LD 12:12 rR[+] respectivamente (Figura 2B; Tabla 2). Es decir, dar acceso restringido a la rueda giratoria durante la fotofase no tendría la capacidad de inducir un cambio de fase en aquellos individuos que presentan un cronotipo nocturno bajo la condición LD 12:12 R[-]. Este resultado se obtuvo de manera consistente con todos los protocolos empleados, donde se observó que los individuos que presentaron cronotipo nocturno bajo la condición LD 12:12 R[-], al pasar a la condición LD 12:12 rR[+] con acceso a la rueda giratoria durante el día mantuvieron su cronotipo nocturno (Tablas 2, 3 y 4).

3. Restringir el acceso a la rueda giratoria afecta el tiempo de utilización de la misma y los kilómetros recorridos.

Nuestros resultados muestran que bajo la condición rR[+], en la cual el acceso a la rueda giratoria es durante sólo 2 hrs (período que representa sólo 8.3% del día), el tiempo en que el animal usa la rueda giratoria y la distancia recorrida fueron proporcionalmente mucho mayores que cuando tuvieron libre acceso a la rueda giratoria durante las 24 hrs (condición R[+]).

Este efecto se observó en mayor o menor grado en casi todos los individuos independiente del protocolo al cual fueron sometidos. Si miramos el tiempo de uso de la rueda giratoria como proporción del tiempo total en que la rueda estuvo disponible, tenemos, por ejemplo, el degu 28_{O2}, que mostró un aumento notorio del 72,4% en el uso de la rueda giratoria al pasar de la condición LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] con acceso por 2 horas en la mitad de la noche. Interesantemente, este aumento fue mucho más modesto y de sólo del 0,4% al pasar de la condición LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] cuando se le dio acceso a la rueda por 2 horas a la mitad del día (Tabla 10). Otro ejemplo es el caso del degu 5z el cual durante el protocolo A tuvo un aumento del 69,2% en el uso de la rueda giratoria al pasar de la condición LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] cuando la rueda se destrabó por 2 hrs a la mitad de la noche (Tabla 10). Solamente 2 individuos disminuyeron (y solo de manera modesta) el tiempo de uso de la rueda giratoria (normalizado con respecto al tiempo total con acceso a la rueda) al pasar a la condición LD 12:12 rR[+]. Uno de ellos fue el degu 9_z, que al pasar de LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] durante el protocolo A presentó una disminución del 7% en el tiempo de utilización de la rueda giratoria. El otro fue el degu 7_z, el cual presentó una disminución del 3,3% en el tiempo de uso de la rueda giratoria al pasar de la condición LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] en el protocolo D en donde se da acceso a la rueda giratoria por una hora a la mitad del día (Tabla 10).

Cuando evaluamos el efecto de restringir el uso de la rueda giratoria a un determinado período de tiempo sobre la distancia corrida, los resultados muestran diversas respuestas dependiendo del protocolo y del individuo. Así tenemos que en el protocolo A todos los individuos aumentaron el número de kilómetros recorridos por hora al pasar de la

condición LD 12:12 R[+] a la condición LD 12:12 rR[+] con acceso restringido a la rueda giratoria durante dos horas en la mitad de la noche. Dentro de estos resultados llama la atención el degu 9_Z el cual, a pesar de disminuir el tiempo de utilización de la rueda giratoria (7% menos en relación a la condición LD 12:12 R[+]), aumentó la distancia recorrida por hora en un 8,2% en relación a la condición LD 12:12 R[+], es decir corrió menos tiempo pero con mayor intensidad (Tabla 11). Otro individuo que registró un cambio importante fue el degu 5_Z el cual aumentó en un 50,9% los kilómetros recorridos por hora al pasar de LD 12:12 R[+] a LD 12:12 rR[+] (Tabla 11).

Respecto al protocolo B, en donde el acceso a la rueda giratoria se programó por 2 hrs previo a la llegada de la noche, 2 de los 7 individuos recorrieron una menor distancia por hora. Por un lado, el degu 55_{O2} disminuyó en un 2,2% los kilómetros corridos por hora pero aumentó el tiempo de utilización de la rueda giratoria en un 42,6%, es decir usó la rueda durante más tiempo pero corrió menos distancia. Lo mismo se observó en el degu 5_Z que disminuyó los kilómetros corridos por hora en un 28,3% (Tabla 11) a la vez que aumentó el tiempo de uso de la rueda giratoria en un 39% (Tabla 10). En ambos casos se observó un aumento en el tiempo de uso de la rueda giratoria pero una disminución en la intensidad de uso de la misma reflejada en la disminución de la distancia recorrida.

Cuando el acceso a la rueda giratoria se programó por dos horas en la mitad del día, lo que corresponde a la tercera semana del protocolo C, 6 de los 7 individuos mostraron una disminución en la cantidad de kilómetros corridos por hora respecto a la condición LD 12:12 R[+] de ese mismo protocolo. En este caso, a pesar de que todos tuvieron un aumento en el tiempo de utilización de la rueda giratoria, sólo el degu 5_Z mostró un aumento en los kilómetros recorridos por hora (Tabla 11).

En los protocolos anteriores se observa que, a medida en que el tiempo de acceso a la rueda giratoria se va alejando de la escotofase, los degus van disminuyendo la distancia recorrida por hora. A pesar de eso, en el protocolo D en donde el acceso a la rueda giratoria se programó por una hora a la mitad del día, sólo 2 de los 7 individuos mostraron una disminución de los kilómetros recorridos por hora (degu 9_Z y 28_{O2} con un 12,4% y 15,5% de disminución respectivamente); de los individuos que mostraron un aumento en la distancia recorrida destaca el degu 5_Z que presentó un aumento del 100,6% en los kilómetros recorridos (Tabla 11).

De acuerdo a los resultados obtenidos, aplicar un fotoperíodo de 24 horas de luz no tendría una marcada influencia en cuanto a al número de kilómetros recorridos siendo el comportamiento de los degus tan variable como lo fue bajo los otros protocolos. Sin embargo, debe tenerse presente que al parecer la intensidad de la luz utilizada en estos experimentos no fue suficientemente alta, por lo que este resultado podría cambiar si se usaran intensidades de luz que logran producir arritmicidad,

Llama la atención lo que se observó en los degus 9_Z y 28_{O2}. Ambos presentaron un comportamiento muy similar en cuanto a la distribución de su actividad, pudiendo ser clasificados como nocturnos en todos los protocolos con fotoperíodo LD 12:12 pasando ambos a cronotipo “diurno” en fotoperíodo LL 12:12. Sin embargo, en lo que respecta al uso de la rueda giratoria, al estar en protocolo LL 12:12 rR[+] el degu 9_Z mostró un aumento de los kilómetros recorridos por hora (19,9%), en tanto que el degu 28_{O2} disminuyó los kilómetros recorridos por hora (10,9%) respecto a los kilómetros recorridos cuando la rueda giratoria se encontraba disponible las 24 hrs del día. Esto podría sugerir

que el cronotipo (diurno o nocturno) dado por el fotoperíodo y el uso de la rueda giratoria están controlados por diferentes marcapasos (Tabla 11).

4. La ingesta de alimento se ve alterada en individuos *Octodon degus* dependiendo del acceso a la rueda giratoria.

Los resultados obtenidos en nuestros ensayos muestran de forma clara que la ingesta de alimento fue menor cuando los individuos tuvieron libre acceso a la rueda giratoria. Este resultado se observó en todos los individuos en estudio, registrándose disminuciones del consumo de alimento que están entre el 4,8% en el caso del degu 28_{O2} durante el protocolo C, y el 14% correspondiente al degu 5_Z en el protocolo B. Por otro lado, al estar ya sea bajo condición R[-] o rR[+], el consumo de alimento se mantuvo entre el 98% y el 100% de la cantidad destinada para la semana (84gr). En cuanto al fotoperíodo, no se observó ninguna disminución del consumo de alimento atribuible a esta variable, sea esta LD 12:12 o LL 12:12 (Tablas 13 a la 17). De alguna manera, estos resultados sugieren que el fotoperíodo aplicado no tendría ninguna influencia sobre el consumo de alimento, mientras que refuerzan la idea de que el uso de la rueda giratoria disminuye la motivación por reforzadores naturales como el alimento (Iversen, 1993).

DISCUSIÓN

La capacidad de los organismos de encarrilar y de enmascarar sus ritmos de actividad locomotora les brinda una importante ventaja adaptativa. En el presente estudio se pretendió mostrar que la distribución de la actividad locomotora, la cual es controlada principalmente por el SCN (Ralph et al., 1990), es susceptible de ser modificada por un estímulo diario no fótico (Aspé, 2011; Kas y Edgar, 1999), el cual no supone un aporte al balance energético del animal. Diversos estudios se han realizado con la finalidad de caracterizar el cronotipo del roedor histricomorfo *Octodon degus*. Se ha descrito que en su nicho ecológico presenta un cronotipo diurno crepuscular asociado a las condiciones de temperatura y disponibilidad de alimento (Bacigalupe et al., 2003). En condiciones de laboratorio se ha mostrado que individuos *O. degus* pueden expresar una diversidad de cronotipos ante diferentes protocolos de acceso a la rueda giratoria (Kas y Edgar, 1999) y ante distintos fotoperíodos (Vivanco et al., 2009). Lo anterior ha generado que varios investigadores propongan clasificaciones de cronotipos basándose en la respuesta expresada por degus al exponerlos a diferentes condiciones experimentales. Así por ejemplo, tenemos la clasificación hecha por García-Allegue et al. (1999) quién, luego de someter a los animales a 11 protocolos con diferente fotoperíodo en condición R[+], postula que los degus se distribuyen en un continuo, teniendo por una parte animales que concentran su actividad en la mañana, y otros que presentan mayor actividad locomotora por la tarde, en el otro extremo. Otra propuesta de clasificación es la realizada por Vivanco et al. (2009), quien clasifica a los degus en (i) diurnos, (ii) nocturnos, e intermedios con (iii) conducta diurna o (iv) nocturna. Finalmente, Aspé (2011) también sostiene que los

cronotipos en *O. degus* se distribuyen en un continuo, pero considera que los criterios utilizados anteriormente son insuficientes y arbitrarios para realizar una correcta clasificación por lo que propone una aproximación más cualitativa que incluya, entre otros parámetros, la clasificación visual de los actogramas de actividad locomotora.

De estos antecedentes se puede deducir que, independientemente de la metodología utilizada en la clasificación, *O. degus* presenta una gran variabilidad en cuanto a la distribución de su actividad locomotora, dependiendo de las condiciones experimentales a las cuales se los someta. Los resultados obtenidos en este estudio se condicen con lo descrito en la literatura en cuanto a la variabilidad de cronotipos. Si observamos la conducta de los degus bajo la condición LD 12:12 R[-] del protocolo B, vemos que 2 de los 7 individuos presentan un cronotipo diurno (Figura 1 (A) degu 9z y (B) degu5z), otros 2 presentan un cronotipo nocturno (Figura 2 (A) degu 7_Z y (B) degu 28_{O2}) en tanto que otros 3 presentan un cronotipo difícil de clasificar ya que su actividad se distribuye casi uniformemente entre la fotofase y la escotofase (Figura 3 (A) degu 89_{F2}, (B) degu 71_{F2} y (C) degu 55_{O2}). Cabe señalar que para realizar esta clasificación se establecieron puntos de corte arbitrarios en base a la distribución de la actividad durante el día y la inspección visual de los actogramas. Una vez que los animales pasaron a la condición LD 12:12 R[+] se pudo observar que aquellos individuos que en condición LD 12:12 R[-] presentaron preferencia por la escotofase mantuvieron esta preferencia (Figura 2 (A) degu 7_Z y (B) degu 28_{O2}). De los restantes 5 individuos, 3 presentaron un cambio de fase trasladando su actividad a la escotofase; de estos 3, 2 individuos corresponden a los que bajo condición LD 12:12 R[-] presentaron preferencia por la fotofase (Figura 1 (A) degu 9z y (B) degu5z) y el tercero de ellos corresponde a un individuo que bajo LD 12:12 R[-] no presentó

ninguna preferencia marcada ya sea por la fotofase o la escotofase (Figura 3 (A) de *degu* 89 f_2). Estos resultados concuerdan con lo descrito por otros autores (Kas y Edgar, 1999; Refinetti, 2006; Vivanco et al., 2009), en cuanto a la capacidad que tienen los individuos *O. degus* de cambiar la fase de su actividad locomotora al tener acceso a la rueda giratoria. Considerando los resultados de este estudio y los diversos antecedentes presentes en la literatura, se hace evidente la gran variabilidad y plasticidad de *O. degus* para modificar la fase de su actividad locomotora, sin embargo, aún no ha sido posible esclarecer los mecanismos que determinan esta variabilidad, la cual se traduce en la expresión de una amplia gama de cronotipos. Ya que el fenotipo es el resultado de la expresión del genotipo en un determinado ambiente, resulta lógico pensar que este fenómeno se debe, por una parte, a factores intrínsecos del animal y por otra a factores medioambientales.

El cambio entre patrones diurnos y nocturnos es un fenómeno que se ha observado en diferentes roedores diurnos, sin embargo, se desconoce la importancia biológica de este comportamiento. Vivanco et al. (2009), propone que las especies que exhiben esta conducta representan una forma de transición desde el nocturnalismo al diurnalismo en la historia evolutiva de los mamíferos. Por otro lado, si consideramos la idea de que este tipo de comportamiento tiene una importancia biológica, resulta interesante analizar la “Hipótesis del centinela” propuesta por Snyder (1966), quien plantea que tanto el humano como otros animales han aprendido que bajo condiciones de peligro es seguro dormir sólo si se emplean centinelas, es decir, individuos que se mantengan despiertos vigilando mientras los otros individuos de la comunidad duermen. Un estudio realizado por Samson et al. (2017) en una comunidad de cazadores-recolectores pertenecientes al pueblo Hadza en Tanzania, determinó que, de las 200 horas que duró el estudio, solo durante 18 minutos (0.001%)

todos los individuos dormían, indicando que la variación del cronotipo entre individuos de una misma comunidad propicia el comportamiento centinela. Dada la estructura social de *O. degus*, el cual vive en colonias de 5-10 animales jóvenes y 2-5 adultos que comparten un sistema de madrigueras (Palacios y Lee, 2013) y que el cronotipo de *O. degus* se describe como similar al de los humanos (Labyak et al., 1997), resulta plausible pensar que esta variabilidad de cronotipos representa una ventaja evolutiva, ya que si bien el sueño es esencial para la supervivencia, también representa un momento de extrema vulnerabilidad a la depredación, conespecíficos hostiles y peligros ambientales.

Si consideramos los factores externos que podrían determinar la expresión de ciertos cronotipos, una posible explicación para los diversos resultados obtenidos entre los estudios son las diferentes condiciones ambientales y de mantención entre los distintos laboratorios, además de los diferentes criterios y herramientas utilizadas para definir el cronotipo de *O. degus* al tratar de clasificar sistemáticamente patrones de comportamiento individuales. Al hacer una revisión de los diversos estudios que buscan caracterizar los cronotipos de *O. degus* u otros roedores se puede ver que muchas veces las clasificaciones de cronotipos se basan en los patrones de conducta expresados en presencia de la rueda giratoria o considerando el efecto de esta sobre la distribución de la actividad locomotora. La implementación de una rueda giratoria es considerada dentro de los “infaltables” para el mejoramiento del bienestar animal al momento de alojar roedores u otros mamíferos, y su implementación se ha relacionado con la disminución de conductas estereotípicas, es decir una conductas repetitivas, invariables y aparentemente sin funciones ni objetivos (G. J. Mason, 1991), como por ejemplo el morder las barras de las jaulas (Hansen y Damgaard, 2009; Richter et al., 2008). Sin embargo, diversos autores (Sherwin, 1998; Richter et al.,

2014; Mason y Würbel, 2016) sugieren que el uso de la rueda giratoria podría tratarse, al menos en algunos individuos, de una estereotipia, y su uso implicaría el reemplazo de una estereotipia por otra. Ya que el comportamiento estereotípico generalmente se clasifica como anormal, se ha planteado que la presentación de estas conductas afectaría la confiabilidad y validez de los estudios experimentales al introducir animales con fisiología y/o neurología anormales en un experimento (Garner, 2005; Gross et al., 2012). Teniendo esto en consideración, podemos plantear que el uso de la rueda giratoria no sería una herramienta confiable para intentar clasificar el cronotipo de animales en condiciones de laboratorio.

Otro punto interesante de analizar respecto al uso de la rueda giratoria como instrumento de evaluación y/o caracterización de cronotipos es la posibilidad de que la rueda giratoria represente un estímulo adictivo. Efectivamente, al realizar una revisión de la literatura, encontramos que el uso de la rueda giratoria podría cumplir al menos con los siguientes 5 puntos utilizados para diagnosticar una adicción en humanos: **(1) Síntomas de abstinencia**, (Hoffmann et al., 1987; Kanarek et al., 2009); **(2) Incapacidad para reducir o controlar el uso de la “droga”** y **(3) Continuar con el uso a pesar de los efectos adversos**, (Klenotich et al., 2012; Siegfried et al, 2003); **(4) Pasar tiempo considerable obteniendo, utilizando y/o recuperando la “droga”**, (Fuss et al., 2009, 2010) **(5) Impacto significativo en actividades sociales, ocupacionales y/o familiares**, (Carter et al., 2000; Howerton et al, 2008).

Debido al diseño experimental de este estudio, resulta difícil comprobar cada uno de los antecedentes mencionados anteriormente en relación a las adicciones, sin embargo, estos podrían explicar en parte los resultados obtenidos. Al observar los datos llama la

atención la cantidad de tiempo que los degus utilizan la rueda giratoria al estar bajo la condición LD 12:12 R[+] (Degu 9_Z en Figura 4 A, por ejemplo), este comportamiento ha sido catalogado como **“Pasar tiempo considerable obteniendo, utilizando y/o recuperando la droga”** (Fuss et al., 2009, 2010) en tanto que otros autores han planteado que las distancias “recorridas” en la rueda giratoria son considerablemente mayores que las distancias que se cubrirían durante la locomoción normal en entornos naturales (Sherwin, 1998), por lo que se trataría de una inadaptación más que una conducta normal. Otra conducta que se ha asociado al punto tratado anteriormente es el hecho de que, al tener acceso libre a la rueda giratoria, algunos individuos interrumpen o modifican su ritmo de actividad natural pasando de un cronotipo más bien diurno a uno nocturno, resultando en altos niveles de actividad durante la escotofase. Este efecto no sólo se ha observado en el presente estudio, sino que ha sido reportado por otros autores en *O. degus* (Kas y Edgar, 1999) y en otras especies de roedores diurnos, como *Arvicanthis niloticus* (Blanchong et al., 1999). Otro dato importante que se desprende de nuestros resultados, y que se condice con lo expuesto anteriormente, es que todos los animales disminuyeron la ingesta de alimento al tener acceso libre a la rueda giratoria (Tablas 13 a la 17). Continuando con los criterios para diagnosticar una adicción, el hecho de disminuir la ingesta de alimento ha sido catalogado como **“Continuar con el uso a pesar de los efectos adversos”**. Un estudio llevado a cabo por Siegfried et al., (2003) informó que, bajo una dieta restringida, las ratas no son capaces de controlar el uso de la rueda giratoria aumentando excesivamente su actividad, lo que finalmente puede llevarlas a la muerte por inanición. Bajo estas circunstancias el uso de la rueda giratoria es claramente una conducta desadaptativa, sin embargo, los roedores parecen ser incapaces de regular el uso de la rueda y, en cambio,

aceptan la aparición de efectos perjudiciales que incluso pueden llegar a amenazar su vida. Si bien la disminución en la ingesta de alimento observada en nuestros ensayos pudiera ser considerada como una conducta desadaptativa, algunos autores han informado que en ratas esta disminución inicial en la ingesta de alimento vuelve a los niveles normales o incluso mayores pasados unos 10 a 14 días desde la primera exposición a la rueda (Bauman, 1992; Looy & Eikelboom, 1989; Tokuyama et al., 1982), sin embargo, en nuestros ensayos no fue posible observar este efecto ya que el tiempo máximo que los degus estuvieron en condición de acceso libre a la rueda giratoria fue de 14 días (protocolos A y E). Tal como indica Novak et al., (2012), estos datos apoyan la idea de que existe una superposición entre los mecanismos neuronales que controlan el apetito y los mecanismos de recompensa, y que estos sistemas cerebrales se ven influenciados por el uso de la rueda giratoria.

Otro aspecto que se quiso evaluar dentro de este trabajo fue la posibilidad que los animales fuesen capaces de expresar una actividad locomotora anticipatoria (LAA), aumentando su actividad locomotora previo al período de acceso a la rueda giratoria, cuando el acceso a esta se restringe a una cierta ventana de tiempo. Como se describe en la introducción de este trabajo, la presentación de LAA ha sido descrita tanto para estímulos considerados “naturales” (ya sea acceso a alimentación, agua o apareamiento) como para estímulos que no afectan directamente el estado metabólico del animal pero que tienen la facultad de estimular el sistema de recompensa como son las drogas psico-estimulantes de abuso (Jansen *et al.*, 2012; Kosobud *et al.*, 1998). Además, se ha descrito que en ratas las diferencias individuales en cuanto al uso de la rueda giratoria reflejan las diferencias en la respuesta a la anfetamina, y que existe una "sensibilidad cruzada" entre el uso de la rueda giratoria y de la anfetamina (Ferreira et al., 2006). Esto implicaría que existen mecanismos

subyacentes similares que median tanto el uso de la rueda giratoria, la activación del sistema de recompensa y la presentación de adicciones (Ferreira et al., 2006).

Dados estos antecedentes, se podría esperar que restringir el acceso a la rueda giratoria durante una ventana de tiempo acotada indujera la aparición de LAA en individuos *O. degus*. Nuestros resultados muestran, nuevamente, una variedad de respuestas dependiendo del individuo y del momento del día en el cual se les dio el acceso a la rueda. Tal como se describe en los resultados, de todos los protocolos utilizados, la única condición experimental bajo la cual se pudo observar LAA fue al restringir el uso de la rueda a dos horas en la mitad de la noche durante el protocolo A. Aun así, sólo 3 de un total de 7 individuos, los degus 7_Z, 89_{F2} y 9_Z, mostraron una conducta que podría ser catalogada como LAA (Figura 10 A, B y C respectivamente). En el caso de los 2 primeros individuos (degus 7_Z y 89_{F2}) la presentación de LAA es concordante con lo que se describe en la literatura cuando, por ejemplo, se restringe el acceso a comida (Landry et al., 2012; Luby et al., 2012), es decir existe un aumento en la actividad locomotora una a dos horas previo a la aparición del estímulo desencadenante de la LAA y este aumento en la actividad locomotora persiste por unas horas luego de retirado el estímulo. Otra característica de la LAA asociada a la restricción de alimento es que los ritmos anticipatorios son autosostenibles, es decir se mantienen durante un tiempo, independiente que ya no exista restricción en el estímulo que gatilla la LAA (Mistlberger y Rusak, 1987). Este efecto se pudo observar en el caso del degu 9_Z, el individuo que cortó los cables del sistema que controla el freno de la rueda. Al quedar la rueda permanentemente bloqueada, tuvo un aumento considerable de su actividad locomotora coincidente con el horario en el cual debía tener acceso a la rueda giratoria, hasta la finalización del ensayo (Figura 10 C).

Como se indica en la sección “resultados” sólo fue posible identificar la aparición de LAA en 3 individuos y ello ocurrió solo bajo un protocolo particular, es decir ninguno de los otros protocolos de acceso a la rueda giratoria fue capaz de inducir LAA. Si bien existe un alto número de estudios en los cuales se ha provocado la aparición de LAA al restringir el acceso a diferentes estímulos (alimento, agua, apareamiento, drogas, etc.), en todos estos estudios la rueda giratoria se ha utilizado únicamente como instrumento de medición de la actividad locomotora. En la revisión bibliográfica realizada, sólo fue posible encontrar un estudio en donde se haya evaluado si la rueda giratoria es capaz *per se* de inducir LAA cuando su acceso es restringido a una determinada ventana temporal. En este estudio realizado por Hsu et al., (2010) un grupo de 6 ratones macho tuvieron acceso restringido a la rueda giratoria durante 2 hrs al día por 21 días, el autor informa que los ratones que tuvieron acceso restringido a la rueda no exhibieron ningún aumento en la actividad locomotora las cuatro horas previas al acceso de funcionamiento de la rueda en comparación con el grupo control. Como dato complementario, existen antecedentes no publicados de que, a diferencia de lo que se ha descrito para el ratón, *O. degus* tampoco muestra LAA frente a la presentación restringida de comida, (Javiera Castro y Adrián Ocampo, comunicación personal).

Otro de los puntos que se quiso evaluar dentro de este trabajo fue la posibilidad de inducir aritmicidad en los patrones de actividad locomotora de los degus mediante el uso de un protocolo de luz constante y así evaluar si la actividad locomotora asociada a la rueda giratoria y la posible presentación de LAA se encontraban dirigidas por un marcapasos diferente al SCN. Este tipo de protocolos se utilizaba de manera rutinaria en estudios de cronobiología para inducción de aritmicidad ya sea en patrones de actividad locomotora, o

en patrones fisiológicos como la temperatura corporal (Cambras y Díez-Noguera, 1991; Cambras *et al.*, 2012; Deprés-Brummer *et al.*, 1995; Eastman y Rechtschaffen, 1983) y surge como una alternativa poco invasiva en comparación a cuando se induce aritmicidad producto de lesiones en el SCN (Boulos *et al.*, 1980; Stephan y Zucker, 1972); además es completamente reversible una vez que los animales vuelven a protocolos de luz y oscuridad normales (LD 12:12) (Eastman y Rechtschaffen, 1983) o protocolos de oscuridad constante (DD 12:12) (Deprés-Brummer *et al.*, 1995). Para estos protocolos en general se utilizan intensidades de 300 lux de luz blanca, similares a los 380 ± 25 lux utilizados en este estudio (Cambras *et al.*, 2012; Deprés-Brummer *et al.*, 1995; Cambras y Díez-Noguera, 1991). Respecto a la seguridad de la utilización de este tipo de protocolos y el posible daño que puedan ocasionar en la retina, existen antecedentes de que protocolos de este tipo aplicados en ratas inducen daño en los fotorreceptores pero utilizando intensidades de 2.150 lux (LaVail *et al.*, 1992), lo cual representa 5,6 veces la intensidad utilizada en nuestro protocolo. Otro punto a considerar es que *Octodon degu* es un roedor diurno, y si bien no existen estudios publicados al respecto en esta especie, hay antecedentes de que en *Arvicanthis niloticus*, otro roedor diurno, es posible aplicar 8 horas de luz blanca con intensidad de 15.000 lux o bien 2 horas con intensidad de 20.000 lux sin producir daños evidentes en la retina (Organisciak y Vaughan, 2010).

Sin embargo, dentro de nuestros ensayos no fue posible inducir aritmicidad en los individuos a pesar de haber estado 56 días bajo condiciones de luz constante. Esto podría deberse a que la intensidad de la luz no fue suficientemente alta. A nuestro conocimiento no existen estudios en donde se induzca aritmicidad por luz constante en roedores diurnos.

CONCLUSIONES

El hecho de que la distribución de la actividad locomotora de un animal pueda ser modificada por un estímulo que no supone un aporte energético al animal, pero que estimula el sistema de recompensa, nos da luces de que, siendo el SCN el marcapasos central, es susceptible de ser “relevado” por marcapasos existentes en otras áreas del cerebro. Si bien aún no se comprenden a cabalidad los mecanismos mediante los cuales el SCN interactúa con otros marcapasos, es claro que el sistema de recompensa cerebral está involucrado en la generación de ritmos circadianos dependientes de estímulos no fóticos tales como la rueda giratoria. De los resultados obtenidos en este estudio y de los antecedentes bibliográficos citados se puede extraer que la rueda giratoria ejerce una marcada influencia en la conducta de los degus y de otros roedores, teniendo la facultad de inducir cambios en el cronotipo, disminuir el consumo de alimento, inducir modificaciones en el patrón de actividad locomotora y propiciar la presentación de LAA. Dados estos antecedentes, resulta importante tener claro que, si bien la rueda giratoria es una herramienta útil a la hora de diseñar estudios que involucren el análisis de la actividad locomotora, su uso por parte de los animales podría obedecer a una conducta estereotipada e incluso tener algunos rasgos asociados a una adicción, por lo cual podría tornarse un “artefacto” que distorsione o al menos conduzca a una mala interpretación de los resultados obtenidos por los investigadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Ángeles-Castellanos, M., Salgado-Delgado, R., Rodríguez, K., Buijs, R. M., & Escobar, C. (2008). Expectancy for food or expectancy for chocolate reveals timing systems for metabolism and reward. *Neuroscience*, *155*(1), 297–307.
- Aschoff, J., Daan, S., & Groos, G. (1982). Circadian contribution to survival. In: , Daan S, Groos G (eds) . pp: In J. Aschoff, S. Daan, & G. Groos (Eds.), *Vertebrate Circadian Systems* (pp. 305–321). New York.: Springer- Verlag, Berlin Heidelberg.
- Aspé, M. (2011). *Diversidad y posible heredabilidad del cronotipocircadiano en el roedor chileno Octodon degus*. Universidad de Valparaíso.
- Bacigalupe, L. D., Rezende, E. L., Kenagy, G. J., & Bozinovic, F. (2003). Activity and Space Use by Degus: A Trade-off between Thermal Conditions and Food Availability? *Journal of Mammalogy*, *84*(1), 311–318.
- Baker, F. C., Angara, C., Szymusiak, R., & McGinty, D. (2005). Persistence of sleep-temperature coupling after suprachiasmatic nuclei lesions in rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *289*(3), R827-38.
- Bauman, R. A. (1992). The effects of wheel running, a light/dark cycle, and the instrumental cost of food on the intake of food in a closed economy. *Physiology & Behavior*, *52*(6), 1077–1083.
- Blanchong, J. a, McElhinny, T. L., Mahoney, M. M., & Smale, L. (1999). Nocturnal and diurnal rhythms in the unstriped Nile rat, *Arvicanthis niloticus*. *Journal of Biological Rhythms*, *14*(5), 364–377.
- Boulos, Z., Rosenwasser, A., & Terman, M. (1980). Feeding schedules and the circadian

- organization of behavior in the rat. *Behavioural Brain Research*, 1(1), 39–65.
- Cambras, T., Castejón, L., & Díez-Noguera, A. (2012). Social interaction with a rhythmic rat enhances the circadian pattern of the motor activity and temperature of LL-induced arrhythmic rats. *Physiology & Behavior*, 105(3), 835–840.
- Cambras, T., & Díez-Noguera, A. (1991). Evolution of rat motor activity circadian rhythm under three different light patterns. *Physiology & Behavior*, 49(1), 63–68.
- Carter, P. A., Swallow, J. G., Davis, S. J., & Garland, T. (2000). Nesting Behavior of House Mice (*Mus Domesticus*) Selected for Increased Wheel-Running Activity. *Behavior Genetics*, 30(2), 85–94.
- Castillo-Ruiz, A., Nixon, J. P., Smale, L., & Nunez, A. A. (2010). Neural activation in arousal and reward areas of the brain in day-active and night-active grass rats. *Neuroscience*, 165(2), 337–349.
- Deprés-Brummer, P., Lévi, F., Metzger, G., & Touitou, Y. (1995). *Light-induced suppression of the rat circadian system. The American journal of physiology* (Vol. 268).
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annual Review of Physiology*, 72(1), 517–549.
- Eastman, C., & Rechtschaffen, A. (1983). Circadian temperature and wake rhythms of rats exposed to prolonged continuous illumination. *Physiology & Behavior*, 31(4), 417–427.
- Ferreira, A., Lamarque, S., Boyer, P., Perez-Diaz, F., Jouvent, R., & Cohen-Salmon, C. (2006). Spontaneous appetite for wheel-running: a model of dependency on physical

- activity in rat. *European Psychiatry*, 21(8), 580–588.
- Fulk, G. W. (1976). Notes on the Activity, Reproduction, and Social Behavior of *Octodon degus*. *Journal of Mammalogy*, 57, 495–505.
- Fuss, J., Ben Abdallah, N. M. B., Hensley, F. W., Weber, K.-J., Hellweg, R., & Gass, P. (2010). Deletion of Running-Induced Hippocampal Neurogenesis by Irradiation Prevents Development of an Anxious Phenotype in Mice. *PLoS ONE*, 5(9), e12769.
- Fuss, M.-B., B. A. N., A., V. M., Chadi, T., Giorgio, P. P., Rupert, P., ... Peter, G. (2009). Voluntary exercise induces anxiety-like behavior in adult C57BL/6J mice correlating with hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*, 20(3), 364–376.
- García-Allegue, R., Lax, P., Madariaga, A. M., & Madrid, J. A. (1999). Locomotor and feeding activity rhythms in a light-entrained diurnal rodent, *Octodon degus*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 277(2), R523–R531.
- Garner, J. (2005). *Stereotypies and Other Abnormal Repetitive Behaviors: Potential Impact on Validity, Reliability, and Replicability of Scientific Outcomes*. *ILAR journal/ National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources* (Vol. 46).
- Hansen, S. W., & Damgaard, B. M. (2009). Running in a running wheel substitutes for stereotypies in mink (*Mustela vison*) but does it improve their welfare? *Applied Animal Behaviour Science*, 118(1), 76–83.
- Helene Richter, S., Gass, P., & Fuss, J. (2014). *Resting Is Rusting: A Critical View on Rodent Wheel-Running Behavior*. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* (Vol. 20).
- Hoffmann, P., Thorén, P., & Ely, D. (1987). Effect of voluntary exercise on open-field

- behavior and on aggression in the spontaneously hypertensive rat (SHR). *Behavioral and Neural Biology*, 47(3), 346–355.
- Howerton, C. L., Garner, J. P., & Mench, J. A. (2008). Effects of a running wheel-igloo enrichment on aggression, hierarchy linearity, and stereotypy in group-housed male CD-1 (ICR) mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 115(1), 90–103.
- Hsu, C. T., Dollár, P., Chang, D., & Steele, A. D. (2010). Daily Timed Sexual Interaction Induces Moderate Anticipatory Activity in Mice. *PLOS ONE*, 5(11), e15429.
- Iversen, I. H. (1993). Techniques for establishing schedules with wheel running as reinforcement in rats. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 60(1), 219–238.
- Klenotich, S., Seiglie, M., S McMurray, M., Roitman, J., Le Grange, D., Dugad, P., & Dulawa, S. (2012). *Olanzapine, but Not Fluoxetine, Treatment Increases Survival in Activity-Based Anorexia in Mice. Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* (Vol. 37).
- Jansen, H. T., Sergeeva, A., Stark, G., & Sorg, B. a. (2012). Circadian discrimination of reward: evidence for simultaneous yet separable food- and drug-entrained rhythms in the rat. *Chronobiology International*, 29(4), 454–468.
- Jud, C., Schmutz, I., Hampp, G., Oster, H., & Albrecht, U. (2005). A guideline for analyzing circadian wheel-running behavior in rodents under different lighting conditions. *Biological Procedures Online*, 7(1), 101–116.
- Kanarek, R. B., D'Anci, K. E., Jurdak, N., & Mathes, W. F. (2009). Running and addiction: precipitated withdrawal in a rat model of activity-based anorexia. *Behavioral Neuroscience*, 123(4), 905–912.

- Kas, M. J., & Edgar, D. M. (1999). A nonphotic stimulus inverts the diurnal-nocturnal phase preference in *Octodon degus*. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *19*(1), 328–333.
- Katona, C., & Smale, L. (1997). Wheel-Running Rhythms in *Arvicanthis niloticus*. *Physiology & Behavior*, *61*(3), 365–372.
- Kosobud, A. E., Pecoraro, N. C., Rebec, G. V., & Timberlake, W. (1998). Circadian activity precedes daily methamphetamine injections in the rat. *Neuroscience Letters*, *250*(2), 99–102.
- Labyak, S. E., Lee, T. M., & Goel, N. (1997). Rhythm chronotypes in a diurnal rodent, *Octodon degus*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *273*(3), R1058–R1066.
- Landry, G. J., Opiol, H., Marchant, E. G., Pavlovski, I., Mear, R. J., Hamson, D. K., & Mistlberger, R. E. (2012). Scheduled daily mating induces circadian anticipatory activity rhythms in the male rat. *PloS One*, *7*(7), e40895.
- LaVail, M. M., Unoki, K., Yasumura, D., Matthes, M. T., Yancopoulos, G. D., & Steinberg, R. H. (1992). Multiple growth factors, cytokines, and neurotrophins rescue photoreceptors from the damaging effects of constant light. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *89*(23), 11249–11253.
- Lee, T. M. (2004). *Octodon degus*: a diurnal, social, and long-lived rodent. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, *45*(1), 14–24.
- Looy, H., & Eikelboom, R. (1989). Wheel running, food intake, and body weight in male rats. *Physiology & Behavior*, *45*(2), 403–405.
- Luby, M. D., Hsu, C. T., Shuster, S. A., Gallardo, C. M., Mistlberger, R. E., King, O. D., &

- Steele, A. D. (2012). Food Anticipatory Activity Behavior of Mice across a Wide Range of Circadian and Non-Circadian Intervals. *PLOS ONE*, 7(5), e37992.
- Mason, G. J. (1991). Stereotypies: a critical review. *Animal Behaviour*, 41(6), 1015–1037.
- Mason, G., & Würbel, H. (2016). What can be learnt from wheel-running by wild mice, and how can we identify when wheel-running is pathological? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1824), 20150738.
- Meunier, G., & Fishcer, R. (1985). Sex differences in ambulation and defecation in the degu (*Octodon degus*). *Personality and Individual Differences*, 6(1), 107–109.
- Mistlberger, R. E. (1992). Anticipatory activity rhythms under daily schedules of water access in the rat. *JBiolRhythms*, 7(2), 149–160.
- Mistlberger, R., & Rusak, B. (1987). Palatable daily meals entrain anticipatory activity rhythms in free-feeding rats: dependence on meal size and nutrient content. *Physiology & Behavior*, 41(3), 219–226.
- Moore, R. Y., & Eichler, V. B. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, 42(1), 201–206.
- Morin, L. P., & Allen, C. N. (2006). The circadian visual system, 2005. *Brain Research Reviews*, 51(1), 1–60.
- N Gross, A., Helene Richter, S., Katarina J Engel, A., & Würbel, H. (2012). *Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. Behavioural brain research* (Vol. 234).
- Novak, C. M., Burghardt, P. R., & Levine, J. A. (2012). The use of a running wheel to measure activity in rodents: Relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(3), 1001–1014.

- Ocampo-Garcés, A., Hernández, F., Mena, W., & Palacios, A. G. (2005). Wheel-running and rest activity pattern interaction in two octodontids (*Octodon degus*, *Octodon bridgesi*). *Biological Research*, 38(2–3), 299–305.
- Organisciak, D. T., & Vaughan, D. K. (2010). Retinal light damage: mechanisms and protection. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29(2), 113–134.
- Palacios, A. G., & Lee, T. M. (2013). Husbandry and Breeding in the *Octodon degu* (Molina 1782). *Cold Spring Harbor Protocols*, 2013(4), pdb.prot073577.
- Pittendrigh CS. (1981). *Circadian systems: entrainment*. In: *Handbook of behavioral neurobiology*. (Aschoff J., Ed.) (4th ed.). New York: Plenum Press.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C., & Menaker, M. (1990). Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science (New York, N.Y.)*, 247(4945), 975–978.
- Refinetti, R. (2006). Variability of diurnality in laboratory rodents. *Journal of Comparative Physiology A*, 192(7), 701–714.
- Richter, H., Ambrée, O., Lewejohann, L., Herring, A., Keyvani, K., Paulus, W., ... Sachser, N. (2008). Wheel-running in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: Protection or symptom? *Behavioural Brain Research*, 190(1), 74–84.
- Rosenwasser, A. M., Schulkin, J., & Adler, N. T. (1988). Anticipatory appetitive behavior of adrenalectomized rats under circadian salt-access schedules. *Animal Learning & Behavior*, 16(3), 324–329.
- Samson, D. R., Crittenden, A. N., Mabulla, I. A., Mabulla, A. Z. P., & Nunn, C. L. (2017). Chronotype variation drives night-time sentinel-like behaviour in hunter-gatherers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1858).

- Sherwin, C. M. (1998). Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Animal Behaviour*, 56(1), 11–27.
- Siegfried, Z., Berry, E. M., Hao, S., & Avraham, Y. (2003). Animal models in the investigation of anorexia. *Physiology & Behavior*, 79(1), 39–45.
- Snyder, F. (1966). Toward an Evolutionary Theory of Dreaming. *American Journal of Psychiatry*, 123(2), 121–136.
- Stephan, F. K., & Zucker, I. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69(6), 1583–1586.
- Sujino, M., Masumoto, K., Yamaguchi, S., van der Horst, G. T. J., Okamura, H., & Inouye, S.-I. T. (2003). Suprachiasmatic nucleus grafts restore circadian behavioral rhythms of genetically arrhythmic mice. *Current Biology : CB*, 13(8), 664–668.
- Takahashi, J., Turek, F., & Moore, R. (2001). *Circadian Clocks. Handbook of Behavioral Neurobiology*. (M. R. Takahashi JS, Turek FW, Ed.) (12th ed.).
- Tokuyama, K., Saito, M., & Okuda, H. (1982). Effects of wheel running on food intake and weight gain of male and female rats. *Physiology & Behavior*, 28(5), 899–903.
- Verwey, M., Robinson, B., & Amir, S. (2013). Recording and Analysis of Circadian Rhythms in Running-wheel Activity in Rodents. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, (71), 1–7.
- Vivanco, P., López-Espinoza, A., Madariaga, A. M., Rol, M. A., & Madrid, J. A. (2010). Nocturnalism induced by scheduled feeding in diurnal *Octodon degus*. *Chronobiology International*, 27(2), 233–250.
- Vivanco, P., Ortiz, V., Rol, M. a, & Madrid, J. a. (2007). Looking for the keys to diurnality

downstream from the circadian clock: role of melatonin in a dual-phasing rodent, *Octodon degus*. *Journal of Pineal Research*, 42(3), 280–290.

Vivanco, P., Rol, M. A., & Madrid, J. A. (2010). Temperature cycles trigger nocturnalism in the diurnal homeotherm *Octodon degus*. *Chronobiology International*, 27(3), 517–534.

Vivanco, P., Rol, M. Á., & Madrid, J. A. (2009). Two Steady-Entrainment Phases and Graded Masking Effects by Light Generate Different Circadian Chronotypes in *Octodon degus*. *Chronobiology International*, 26(2), 219–241.

Vivanco, P., Rol, M., & Madrid, J. (2009). Two steady-entrainment phases and graded masking effects by light generate different circadian chronotypes in *Octodon degus*. *Chronobiology International*, 26(2), 219–241.

FIGURAS Y TABLAS

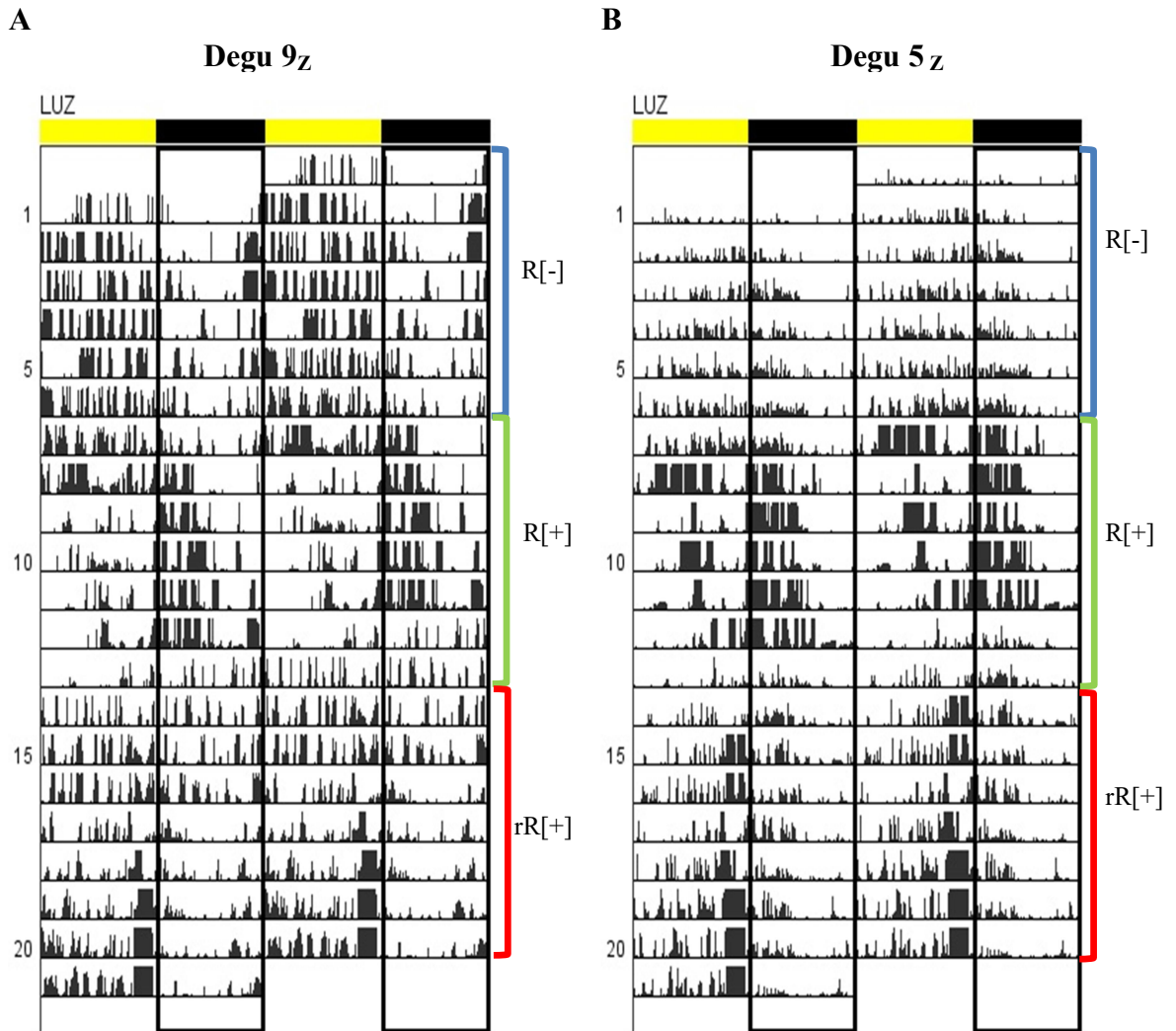


Figura 1. Actogramas de actividad locomotora de los degus 9_z y 5_z. Cada actograma representa, en las líneas horizontales, 2 días consecutivos de registro de actividad, donde las líneas verticales presentes en cada uno de los días indican el nivel de actividad, muestreada cada minuto. Las áreas demarcadas bajo la franja amarilla representan las horas de luz, en tanto que las áreas demarcadas bajo la franja negra representan las horas de oscuridad. A la derecha de cada actograma se indica el periodo en que el animal estuvo en las diferentes condiciones de acceso a la rueda giratoria (R[-], R[+] o rR[+]). Cada actograma representa un período de 21 días. **(A)** Actograma del degu 9_z en el protocolo **B**. Se observa que en la primera semana, bajo la condición R[-], concentró su actividad principalmente en la fotofase (ID 0,21); luego al pasar a la condición R[+] desplazó su actividad a la escotofase (ID -0,28); y posteriormente, al pasar a la condición rR[+] (2 horas previo a la llegada de la noche), volvió a presentar un cronotipo diurno (ID 0,14). **(B)** Actograma del degu 5_z en el protocolo **B**. Se observa que en la primera semana, bajo la condición R[-], concentró su actividad principalmente en la fotofase (ID 0,08); luego al pasar a la condición R[+] desplazó su actividad a la escotofase (ID -0,10); y posteriormente, al pasar a la condición rR[+] (2 horas previo a la llegada de la noche), volvió a presentar un cronotipo diurno (ID 0,22).

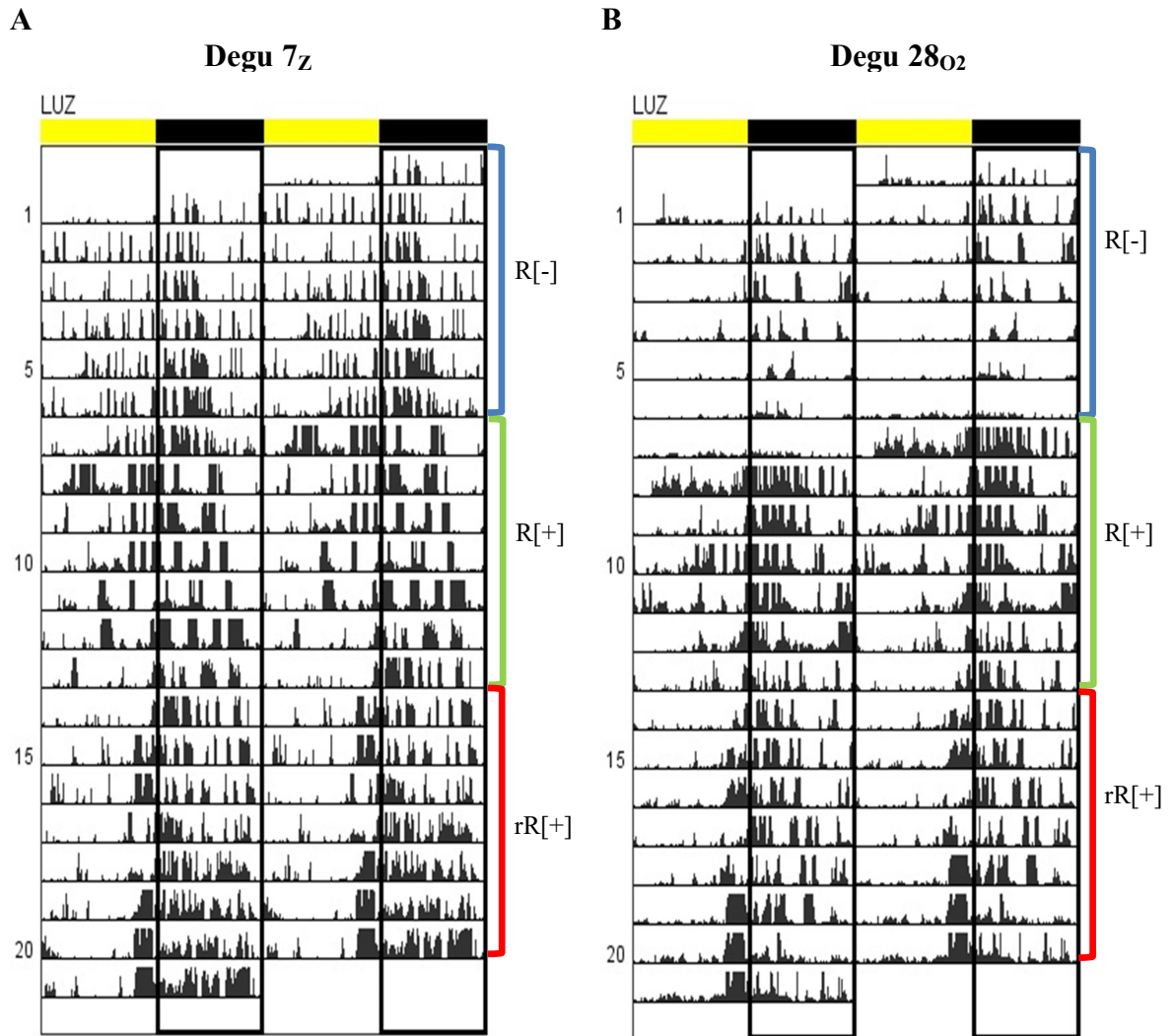


Figura 2. Actogramas de actividad locomotora de los degus 7_z y 28_{O_2} , ambos en el protocolo B. (A) Actograma del degu 7_z . Se observa que mantuvo un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo B con un ID $-0,14$ de bajo la condición R[-], un ID de $-0,17$ al pasar a la condición R[+] y un ID de $-0,21$ en la condición rR[+] (2 horas previo a la llegada de la noche). (B) Actograma del degu 28_{O_2} , el cual también mantuvo un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo B con un ID $-0,11$ de bajo la condición R[-], un ID de $-0,26$ al pasar a la condición R[+] y un ID de $-0,19$ en la condición rR[+] (2 horas previo a la llegada de la noche).

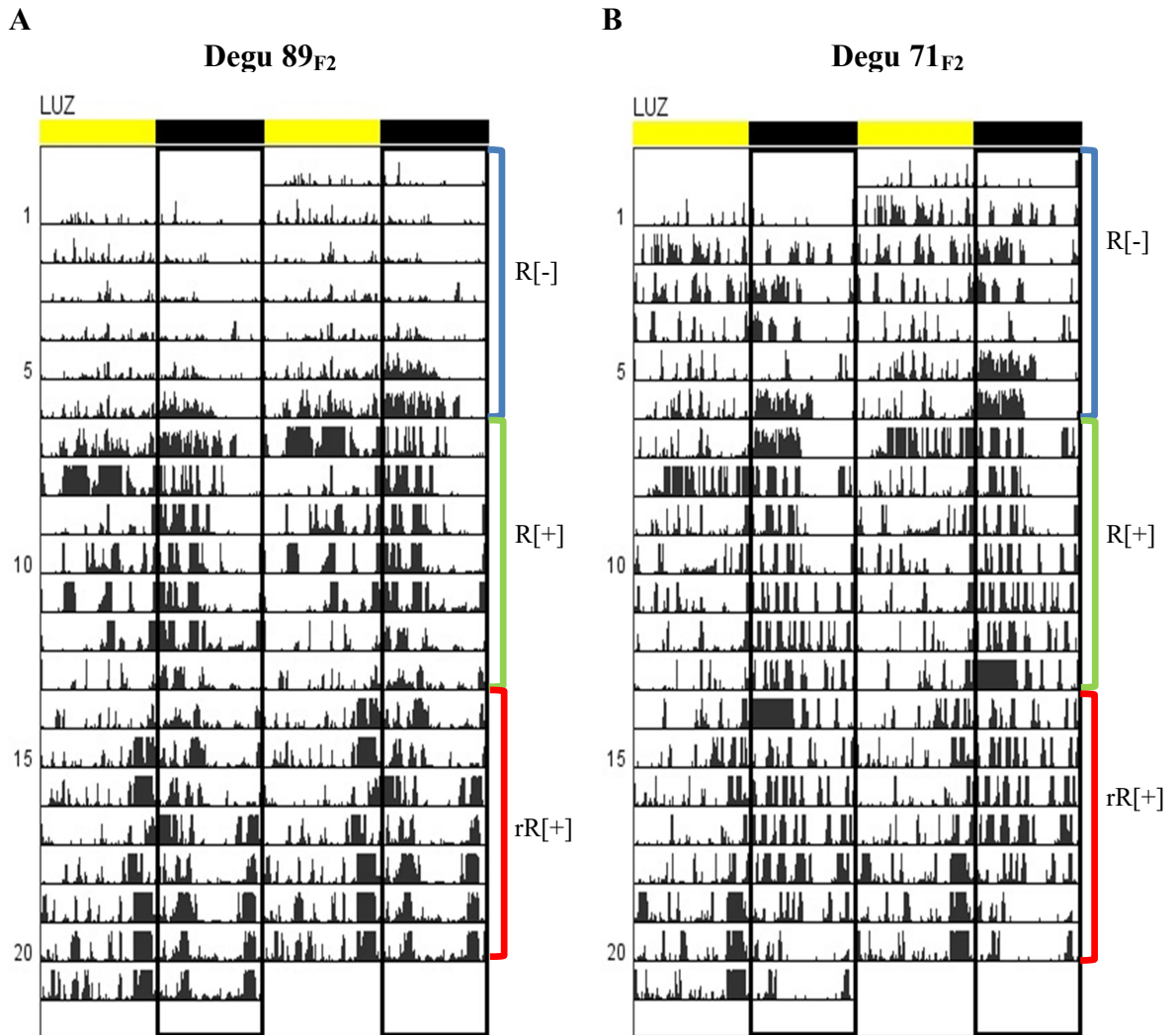


Figura 3 (continúa en la página siguiente). Actogramas de actividad locomotora de los degus **89_{F2}** y **71_{F2}**, ambos bajo el protocolo **B**. **(A)** Actograma del degu **89_{F2}**. Se observa que en la primera semana, bajo la condición **R[-]**, presentó una actividad indiferenciada con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID 0,02); luego al pasar a la condición **R[+]** desplazó su actividad a la escotofase (ID -0,15); y posteriormente, al pasar a la condición **rR[+]** (2 horas previo a la llegada de la noche), volvió a presentar un cronotipo indiferenciado con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID 0,03). **(B)** Actograma del degu **71_{F2}**, el cual también presentó un cronotipo indiferenciado con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID -0,01); luego al pasar a la condición **R[+]** desplazó su actividad a la escotofase (ID -0,24); y posteriormente, al pasar a la condición **rR[+]** (2 horas previo a la llegada de la noche), volvió a presentar un cronotipo indiferenciado con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID -0,08).

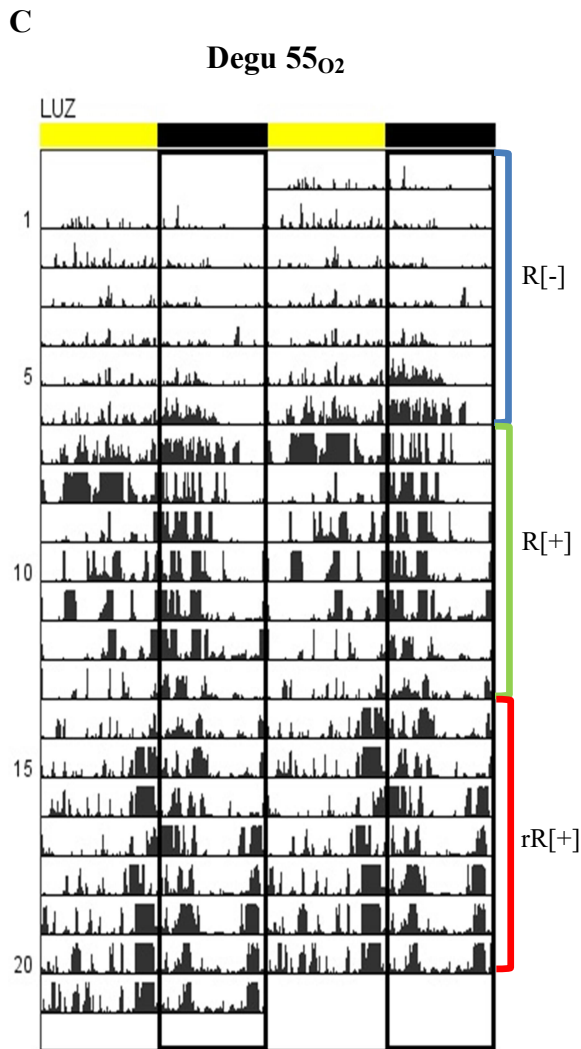


Figura 3 (continuación). (C) Actograma de actividad locomotora del degu 55_{O2} bajo el protocolo B. Se observa que en la primera semana, bajo la condición R[-], presentó una actividad indiferenciada con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID -0,03); luego al pasar a la condición R[+] desplazó su actividad levemente a la escotofase (ID -0,04); y posteriormente, al pasar a la condición rR[+] (2 horas previo a la llegada de la noche), volvió a presentar un cronotipo indiferenciado, levemente crepuscular, con un índice de diurnidad cercano a 0 (ID 0,08).

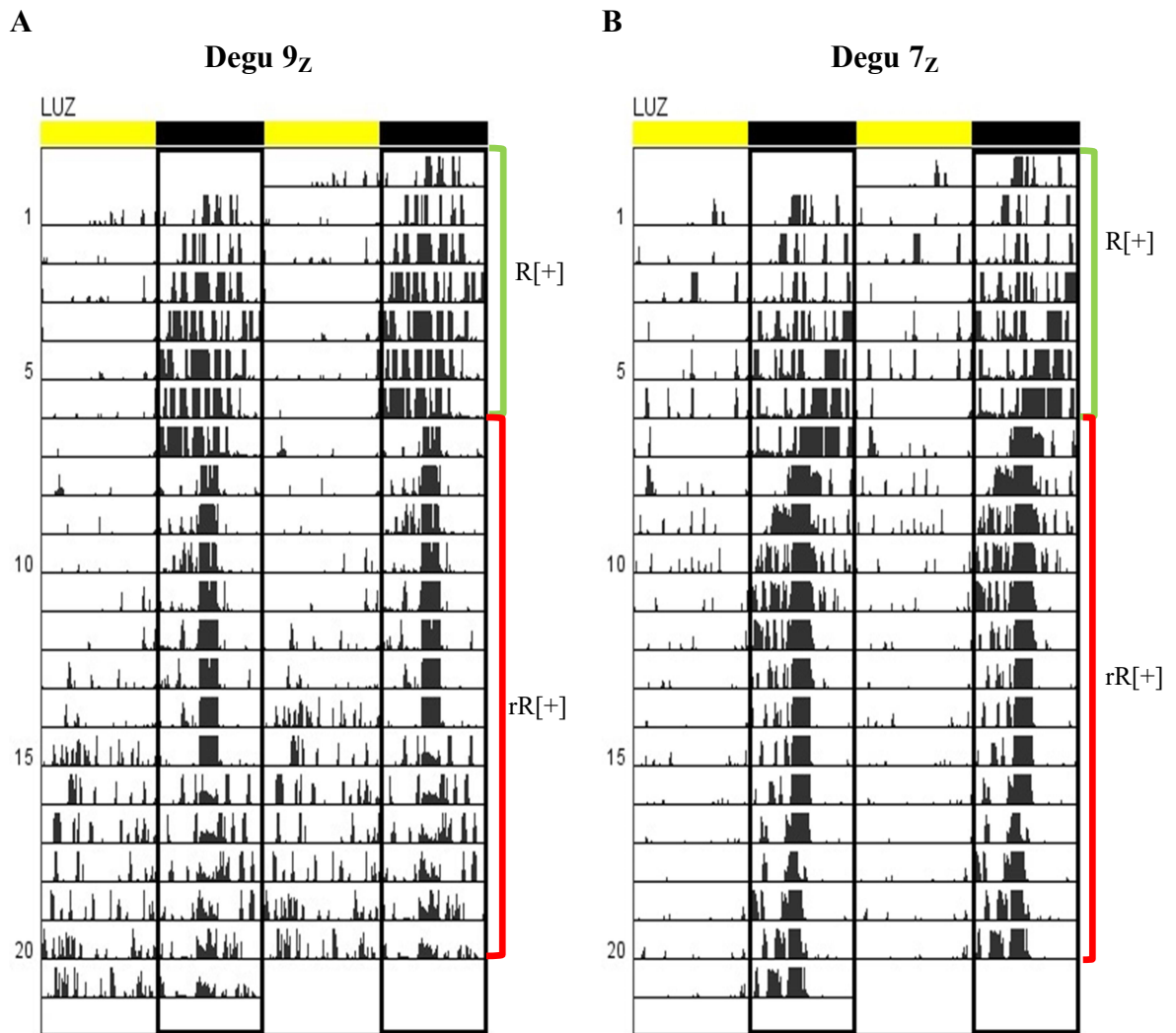


Figura 4 (continúa en la página siguiente). Actogramas de actividad locomotora de los degus 9_z y 7_z. **(A)** Actograma del degu 9_z. Se observa que presentó un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo A con un ID de -0,65 bajo la condición R[+] y con IDs de -0,52 y -0,10 para la primera y segunda semanas respectivamente, ambas bajo la condición rR[+] (2 horas a la mitad de la noche). **(B)** Actograma del degu 7_z. En este individuo también se puede observar que presentó un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo A con un ID de -0,52 bajo la condición R[+] y con IDs de -0,57 y -0,50 para la primera y segunda semanas respectivamente, ambas bajo la condición rR[+](2 horas a la mitad de la noche).

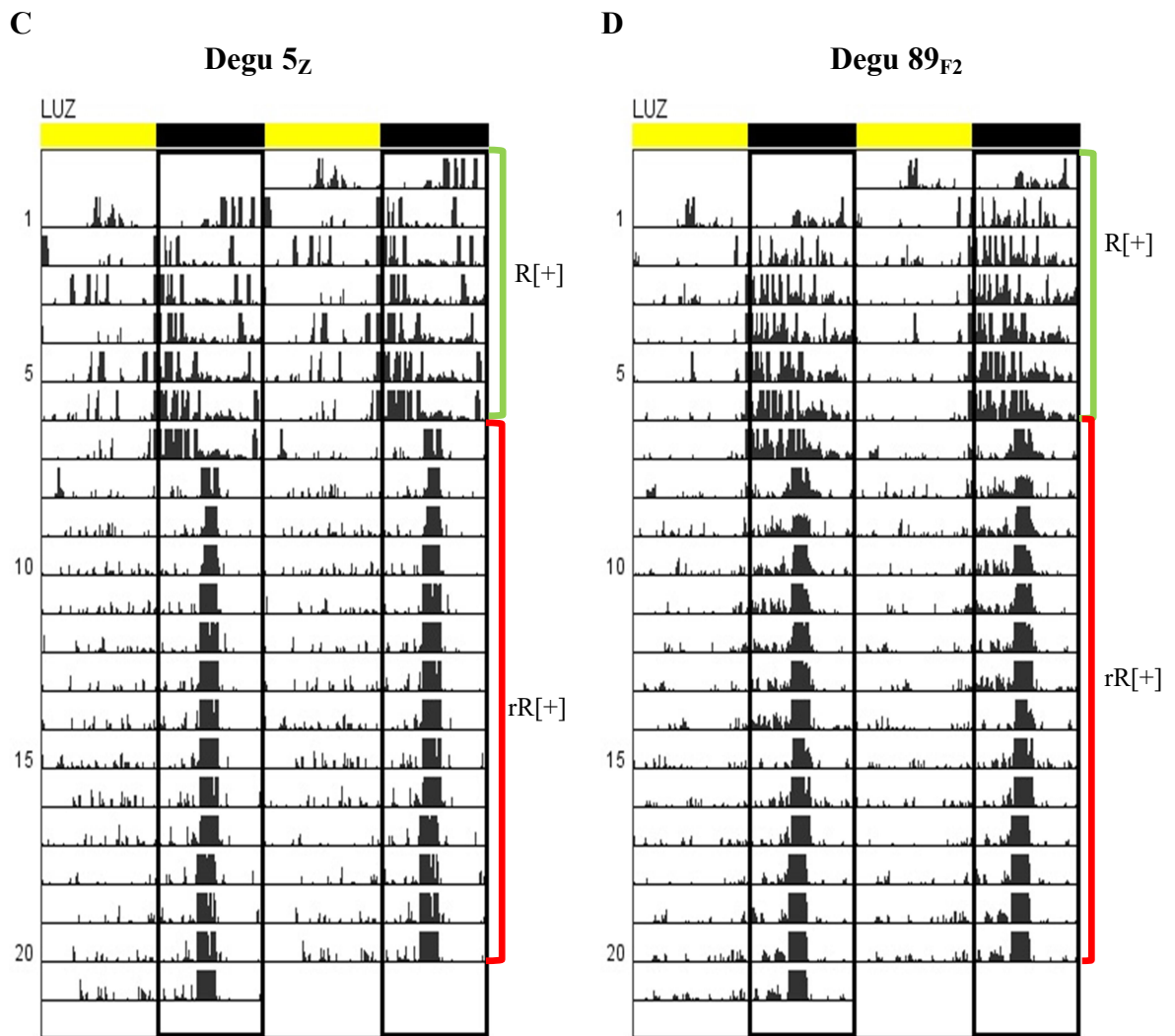


Figura 4 (continúa en la página siguiente). Actogramas de actividad locomotora de los degus 5_z y 89_{F2} . **(C)** Actograma del degu 5_z . Este degu presentó un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo A con un ID de -0,40 bajo la condición R[+] y con IDs de -0,43 y -0,42 para la primera y segunda semanas respectivamente, ambas bajo la condición rR[+](2 horas a la mitad de la noche). **(B)** Actograma del degu 89_{F2} . En este individuo también se puede observar que presentó un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo A con un ID de -0,47 bajo la condición R[+] y con IDs de -0,43 y -0,44 para la primera y segunda semanas respectivamente, ambas bajo la condición rR[+](2 horas a la mitad de la noche).

E

Degu 28_{O2}

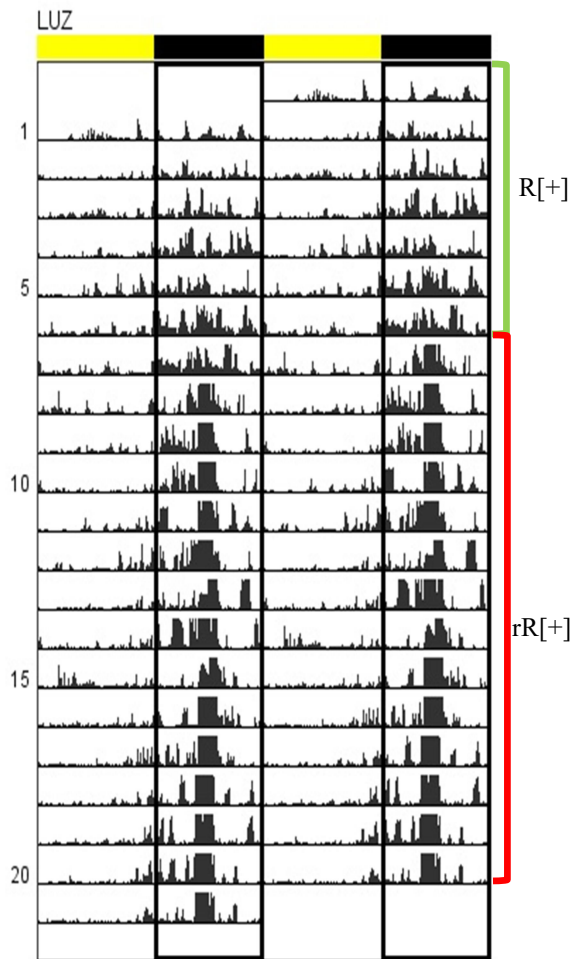


Figura 4 (continuación). Actograma de actividad locomotora del degu 28_{O2}. (E) Bajo las condiciones del protocolo A este individuo mostró un cronotipo consistentemente nocturno, así podemos observar que presentó un ID de -0,23 bajo la condición R[+] y un ID de -0,37 para la primera y segunda semanas, ambas bajo la condición rR[+](2 horas a la mitad de la noche).

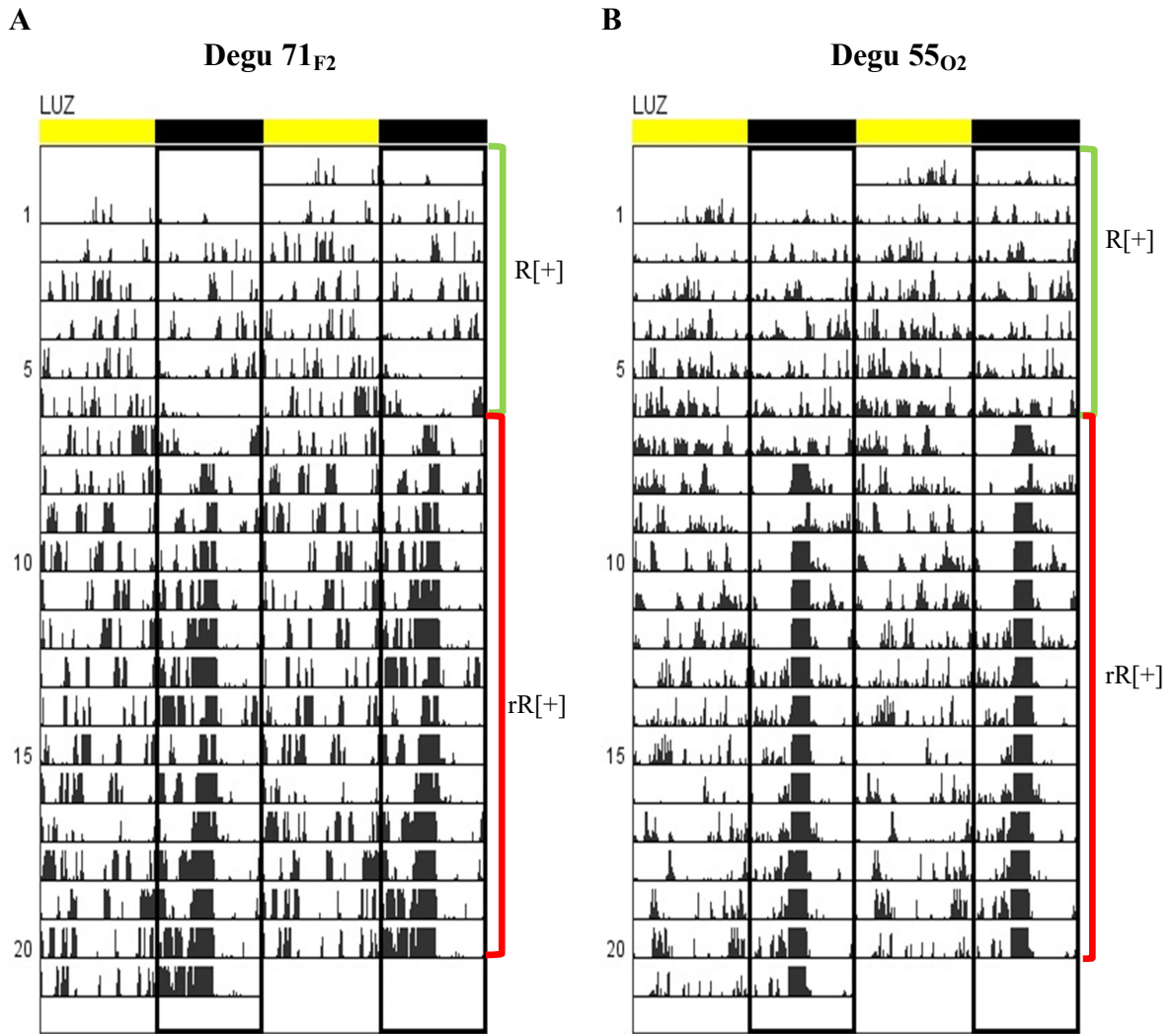


Figura 5. Actogramas de actividad locomotora de los degus 71_{F2} y 55_{O2}. (A) Actograma del degu 71_{F2}. Podemos ver que bajo la condición R[+] del protocolo A, este individuo presentó un cronotipo poco definido, mostrando un nivel de actividad similar tanto en la fotofase como en la escotofase con un ID de 0,03, en tanto que al pasar a la condición rR[+] (2 horas a la mitad de la noche) concentra sobre un 60% de su actividad en la escotofae con IDs de -0,20 y -0,25 para la segunda y tercera semana respectivamente. (B) Por su parte el degu 55_{O2} presentó un comportamiento similar, mostrando un cronotipo poco definido en la condición R[+] de la primera semana con un ID de 0,01 con similar actividad en fotofase y escotofase, mientras que al pasar a la condición rR[+] (2 horas a la mitad de la noche) presentó un cronotipo nocturno tanto en la segunda como en la tercera semana con ID de -0,22 y -0,36 respectivamente, lo que implica sobre un 60% de la actividad en la noche.

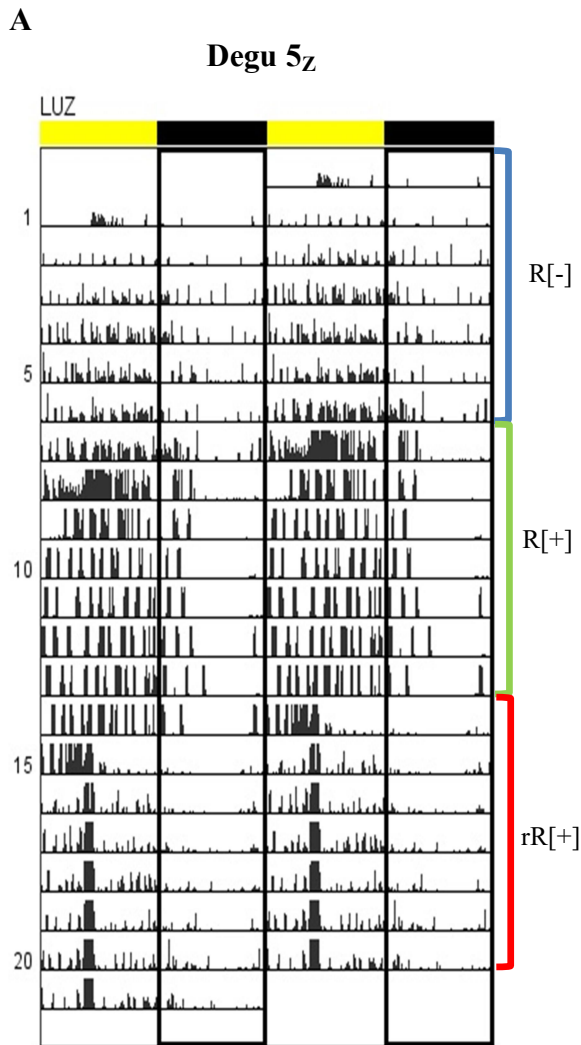


Figura 6. Actograma de actividad locomotora del degu 5_Z. (A) Ejemplo de un degu que muestra un cronotipo diurno en todas las condiciones del protocolo **D**, con un ID de 0,14 para la primera semana (condición R[-]), un ID de 0,35 para la segunda semana (condición R[+]) y un ID de 0,36 para la tercera semana (condición rR[+], 1 hora a la mitad del día). Notar que este mismo individuo mostró un cronotipo completamente nocturno en el protocolo **A** (Figura 4A).

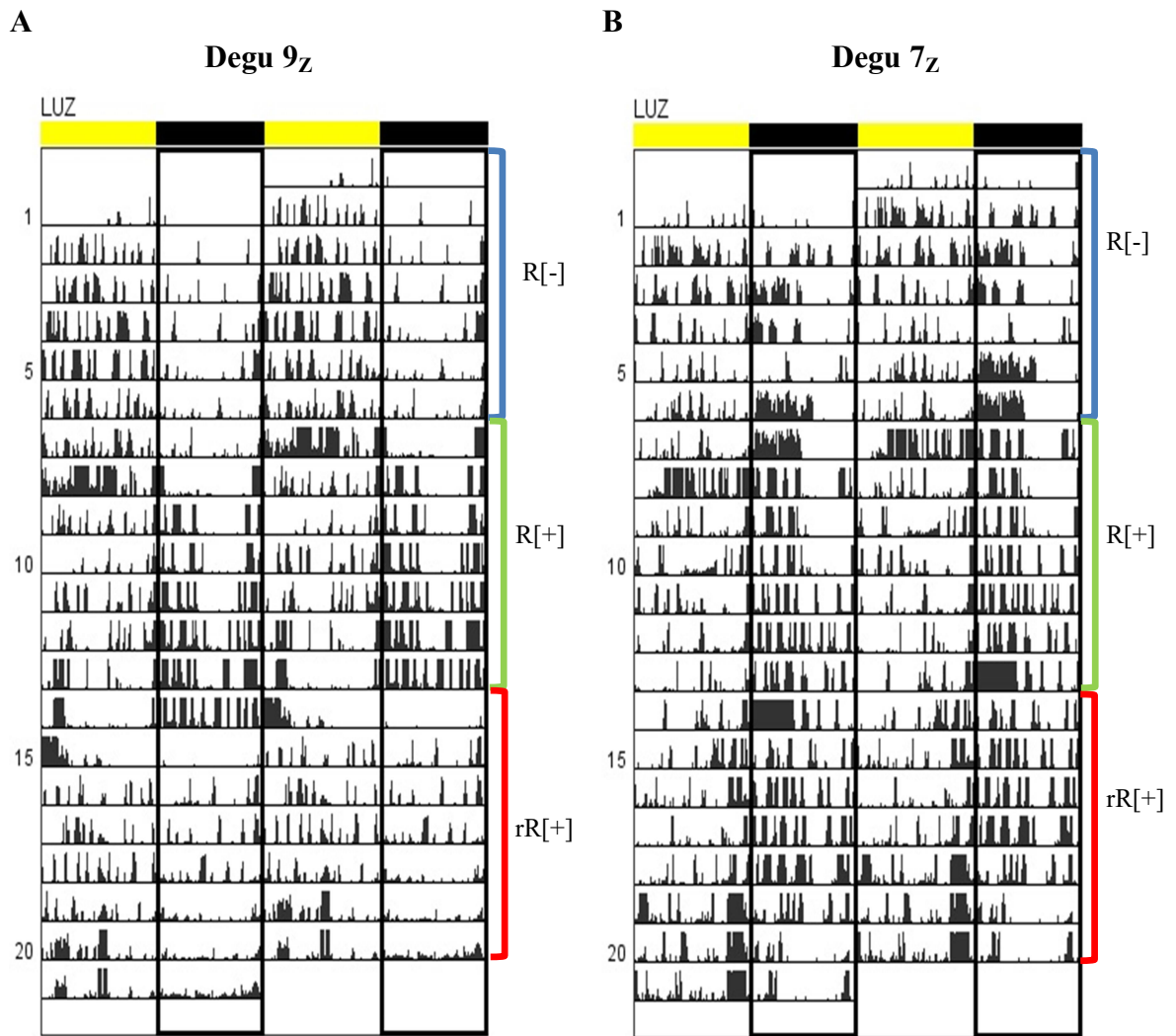


Figura 7. Actogramas de actividad locomotora de los degus 9_z y 7_z, en el protocolo C. (A) Actograma del degu 9_z en el protocolo C. Se observa que en la primera semana, bajo la condición R[-], concentró su actividad principalmente en la fotofase (ID 0,19); luego al pasar a la condición R[+] desplazó su actividad a la escotofase (ID -0,30); y posteriormente, al pasar a la condición rR[+] (2 horas a la mitad del día), volvió a presentar un cronotipo diurno (ID 0,16). Este comportamiento es consistente con lo visto en el protocolo B (Figura 1A). (B) Actograma del degu 7_z. Se observa que mantuvo un cronotipo nocturno durante las 3 semanas del protocolo C con un ID de -0,25 bajo la condición R[-], un ID de -0,30 al pasar a la condición R[+] y un ID de -0,30 en la condición rR[+] (2 horas a la mitad del día). Similar comportamiento se observa bajo el protocolo B (Figura 2A).

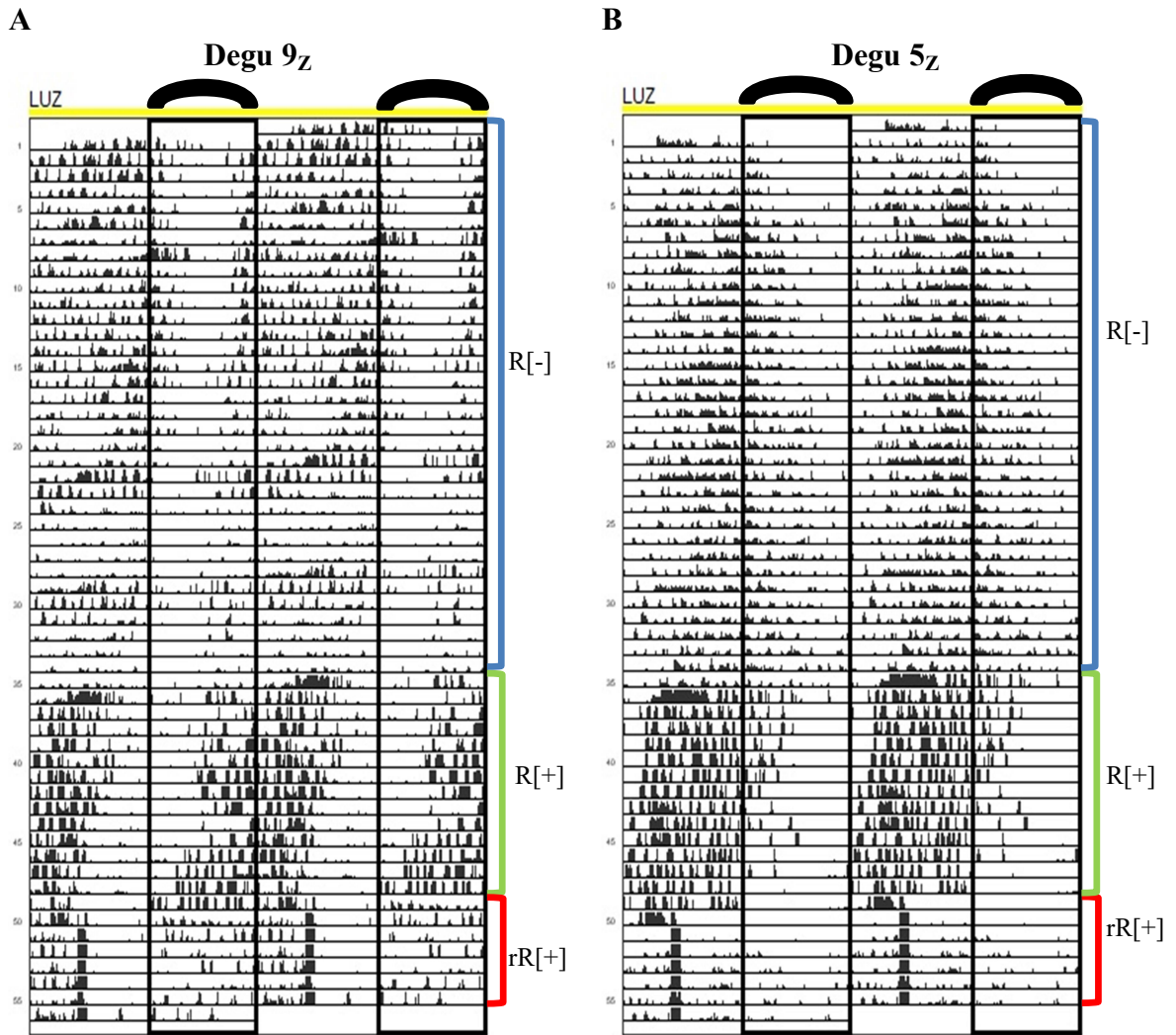


Figura 8 (continúa en la página siguiente). Actogramas de actividad locomotora de los degus 9_z y 5_z , ambos bajo el protocolo E (LL 12:12). Dado que este protocolo considera luz constante las 24 hrs del día, las áreas demarcadas bajo los arcos negros representan las horas de oscuridad en el protocolo LD 12:12 anterior al inicio del protocolo LL. Cada actograma representa un período de 56 días. **(A)** Actograma del degu 9_z . En la condición LL 12:12 este individuo desarrolló su actividad principalmente en el período correspondiente al día (en un protocolo LD 12:12) independiente del protocolo de acceso a la rueda; sin embargo, se puede observar que al pasar a la condición LL 12:12 R[+] (sexta y séptima semanas) se produce un leve desplazamiento de la actividad al período de (lo que fue) la noche. **(B)** Actograma del degu 5_z . Al igual que con el degu 9_z , este individuo desarrolló su actividad principalmente en (lo que fue) el día independiente del protocolo de acceso a la rueda. Sin embargo, se puede observar que al pasar a la condición LL 12:12 R[+] (sexta y séptima semanas) se produce un aumento de la actividad en el período correspondiente a (lo que fue) el día.

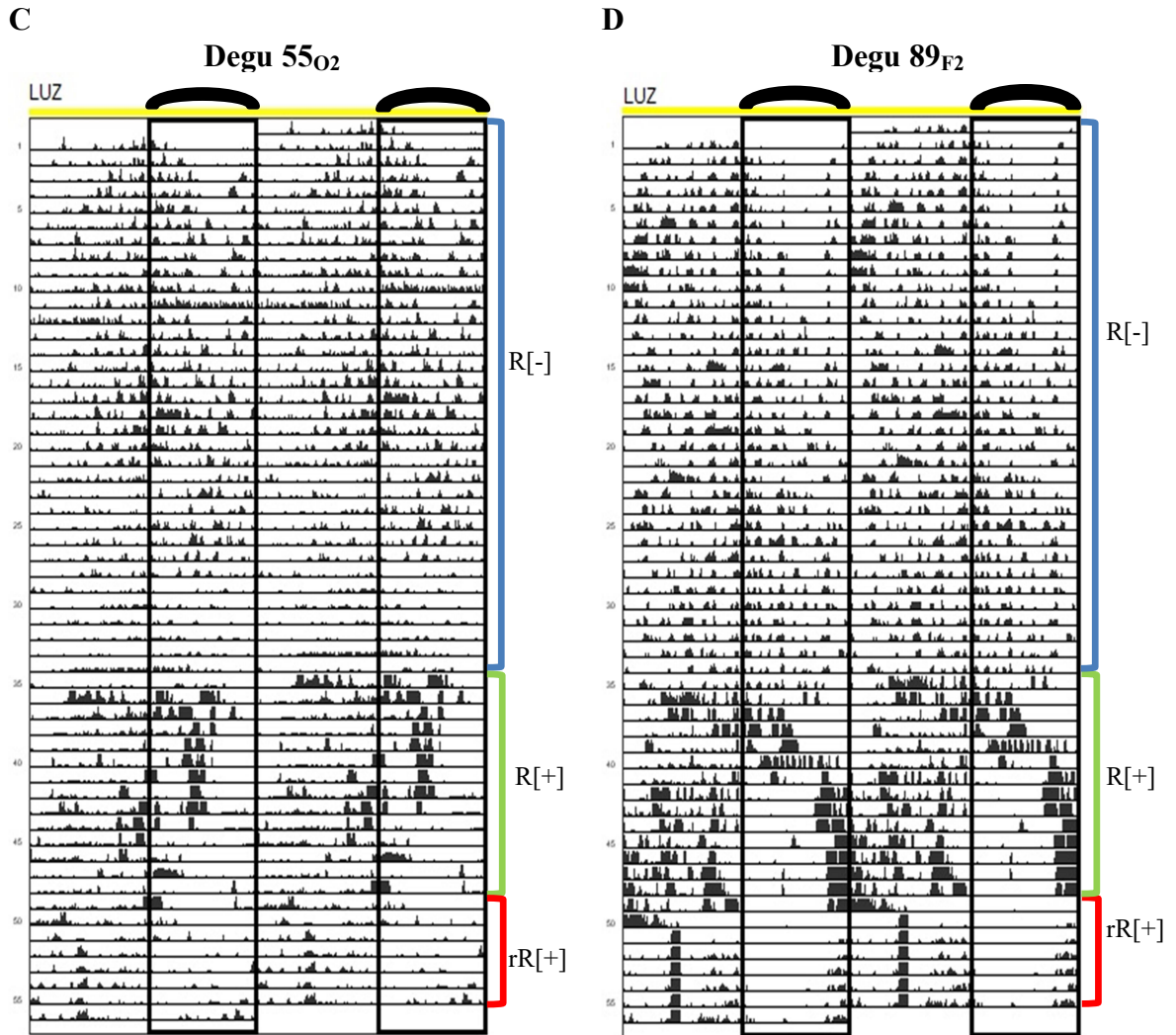


Figura 8 (continuación). Actogramas de actividad locomotora de los degus 55O₂ y 89F₂, ambos bajo el protocolo E (LL 12:12). (C) Actograma del degu 55O₂. En la condición LL 12:12 este individuo desarrolló su actividad principalmente en el día subjetivo independiente del protocolo de acceso a la rueda. Se puede observar que al tener acceso a la rueda, a partir de la sexta semana, se produce un aumento de la actividad sobre todo en (lo que fue) el día. (D) Actograma del degu 89F₂. Este degu comenzó mostrando mayor actividad en (lo que fue) el día, pero a medida que avanzan los días su actividad comenzó a distribuirse uniformemente entre los períodos que fueron día y noche antes del inicio del protocolo LL. Cuando pasa a la condición R[+] (sexta y séptima semanas) desarrolló un cronotipo “Crepuscular – Diurno”, y al pasar a la condición rR[+] (2 horas a la mitad del día) volvió a concentrar su actividad principalmente en (lo que fue) el día.

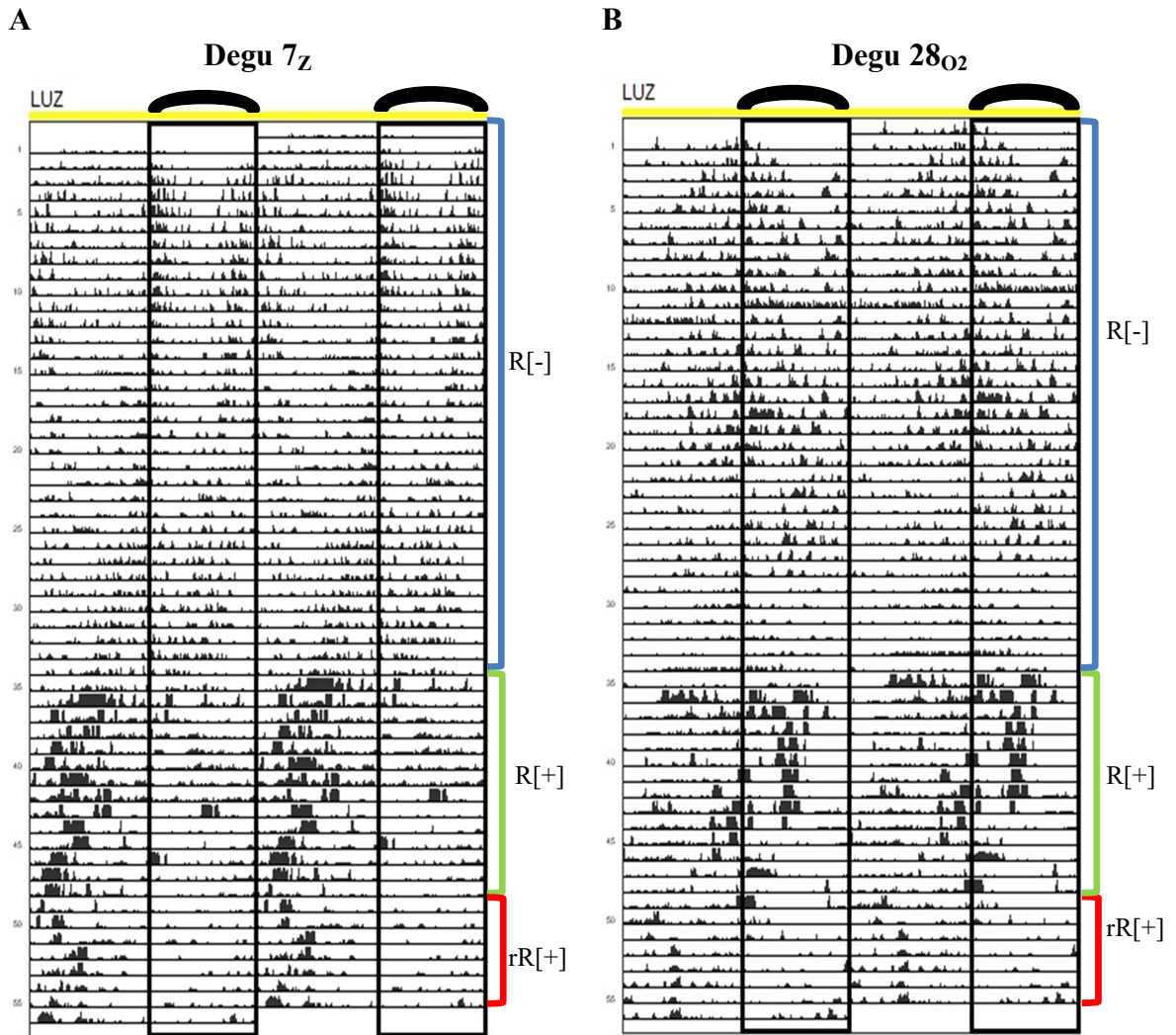


Figura 9. Actogramas de actividad locomotora de los degus 7_z y 28_{O2}, ambos bajo el protocolo E (LL 12:12). (A) Actograma del degu 7_z. En la condición LL 12:12 R[-] este individuo desarrolló su actividad principalmente en (lo que fue) la noche pero a medida que avanzan los días su actividad comenzó a distribuirse uniformemente entre los períodos que fueron día y noche antes del inicio del protocolo LL, finalizando este período de 5 semanas con un cronotipo indiferenciado. Además, se puede observar que al darle acceso a la rueda se produjo un desplazamiento de la actividad a (lo que fue) el día. (B) Actograma del degu 28_{O2}. Al igual que con el degu 7_z, este individuo comenzó este protocolo desarrollando su actividad principalmente en (lo que fue) la noche, y a medida que van avanzando los días su actividad se va distribuyendo más uniformemente entre los períodos que fueron día y noche antes del inicio del protocolo LL. Luego, al darle acceso a la rueda, traslada su actividad a (lo que fue) la noche durante la sexta semana y a (lo que fue) el día durante la séptima y octava semanas.

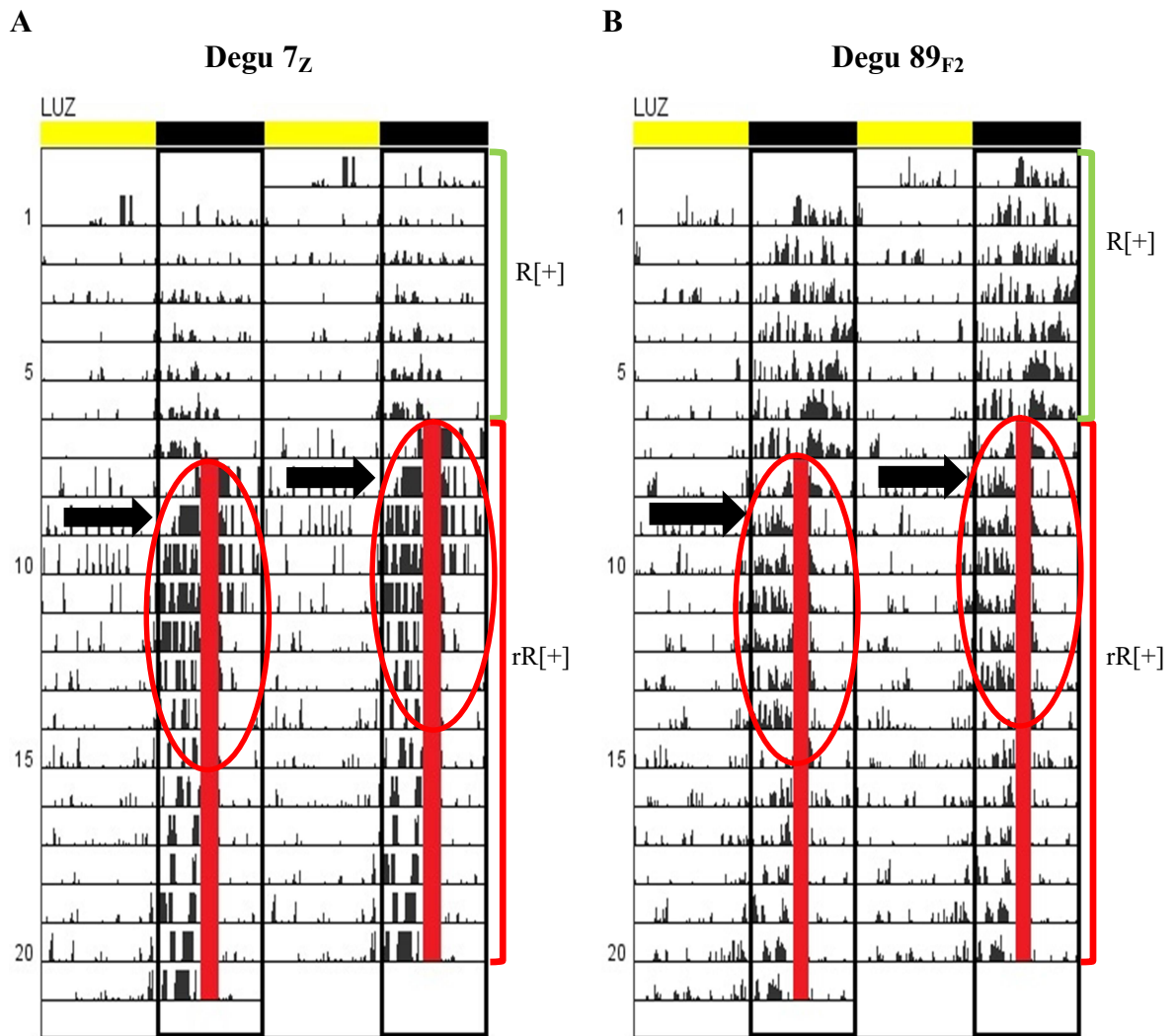


Figura 10 (continúa en la página siguiente). Actogramas (SR) del protocolo A. La barra vertical de color rojo dentro de cada actograma indica el momento en el cual se da acceso a la rueda giratoria por un período de 2 horas. La sección que se encuentra dentro del óvalo rojo muestra la expresión de LAA por parte de los degus. **(A)** Actograma (SR) del degu 7_Z . Se puede ver, dentro de la zona demarcada, que este individuo comienza a mostrar LAA al segundo día de acceso restringido a la rueda giratoria (flecha), mostrando un aumento en su actividad locomotora aproximadamente 2 horas previo a la llegada de la rueda, la que se mantiene elevada una vez terminado el período de 2 horas de acceso a la rueda. Este comportamiento se observa de manera consistente hasta el día 14, luego de lo cual se ve disminuida la LAA (Días 15 a 21). **(B)** Actograma (SR) del degu 89_{F2} . Al igual que el degu 7_Z , este individuo comienza a mostrar LAA al segundo día de acceso restringido a la rueda giratoria (flecha), sin embargo, en este caso el efecto no es tan marcado y tiende a desaparecer a partir del día 14.

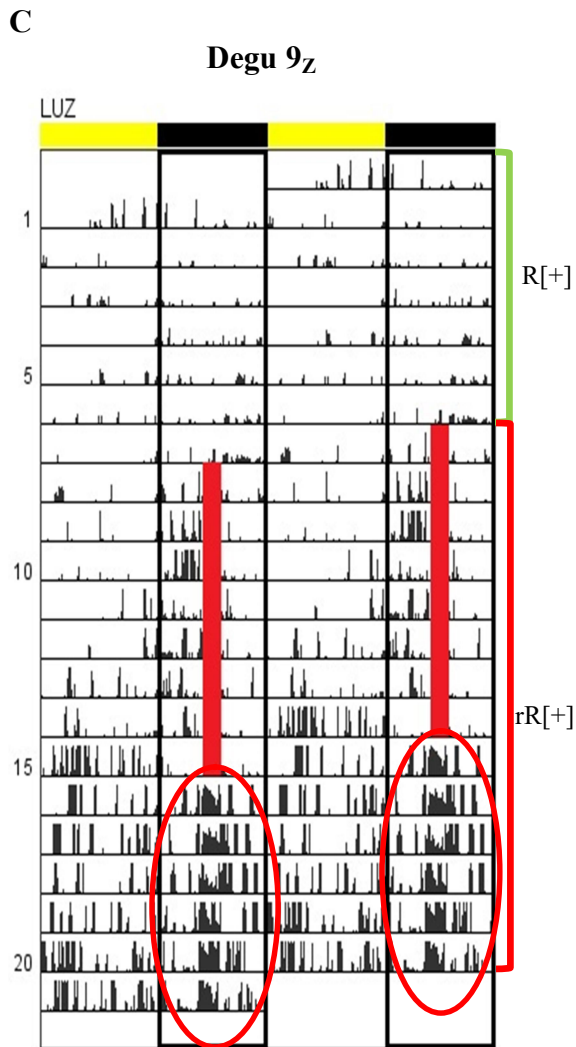


Figura 10 (continuación). (C) Actograma (SR) de actividad locomotora del degu 9_Z bajo el protocolo A. Como se menciona en la sección **RESULTADOS**, este animal cortó los cables del sistema que permitía destrabar la rueda giratoria, por lo cual a partir del día 16 pasó a estar sin rueda las 24 horas del día. Sin embargo, continuó mostrando un aumento considerable de su actividad locomotora coincidente con el horario en el cual debía tener acceso a la rueda giratoria durante los restantes 7 días (Óvalos rojos).

Tabla 1. Porcentaje de Actividad Día vs Noche obtenido cada semana en protocolo **B**

Protocolo		Semana	Período del Día	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
B	LD 12:12 R[-]	Semana 1	Día	61%	43%	53%	51%	49%	49%	44%
			Noche	39%	57%	47%	49%	51%	51%	56%
	LD 12:12 R[+]	Semana 2	Día	36%	43%	46%	44%	40%	49%	37%
			Noche	64%	57%	54%	56%	60%	51%	63%
	LD 12:12 rR[+]	Semana 3	Día	57%	38%	59%	51%	45%	54%	40%
			Noche	43%	62%	41%	49%	55%	46%	60%

Tabla 2. Índices de Diurnidad (ID) obtenidos semanalmente en protocolo **B**.

Protocolo		ID Degu 9 _Z	ID Degu 7 _Z	ID Degu 5 _Z	ID Degu 89 _{F2}	ID Degu 71 _{F2}	ID Degu 55 _{O2}	ID Degu 28 _{O2}
B	LD 12:12 R[-]	0,21	-0,14	0,08	0,02	-0,01	-0,03	-0,11
	LD 12:12 R[+]	-0,28	-0,17	-0,10	-0,15	-0,24	-0,04	-0,26
	LD 12:12 rR[+]	0,14	-0,21	0,22	0,03	-0,08	0,08	-0,19

Tabla 3. Índices de Diurnidad (ID) obtenidos semanalmente en protocolo **C**.

Protocolo		ID Degu 9 _Z	ID Degu 7 _Z	ID Degu 5 _Z	ID Degu 89 _{F2}	ID Degu 71 _{F2}	ID Degu 55 _{O2}	ID Degu 28 _{O2}
C	LD 12:12 R[-]	0,19	-0,25	0,03	-0,04	-0,05	0,02	-0,14
	LD 12:12 R[+]	-0,30	-0,30	-0,15	-0,40	-0,36	0,07	-0,17
	LD 12:12 rR[+]	0,16	-0,30	0,20	-0,05	-0,27	0,14	-0,09

Tabla 4. Índices de Diurnidad (ID) obtenidos semanalmente en protocolo **D**.

Protocolo		ID Degu 9 _Z	ID Degu 7 _Z	ID Degu 5 _Z	ID Degu 89 _{F2}	ID Degu 71 _{F2}	ID Degu 55 _{O2}	ID Degu 28 _{O2}
D	LD 12:12 R[-]	0,12	-0,26	0,14	0,12	-0,08	0,07	-0,02
	LD 12:12 R[+]	-0,16	-0,17	0,35	0,10	0,01	0,08	-0,05
	LD 12:12 rR[+]	0,13	-0,14	0,36	0,11	-0,11	0,08	-0,01

Tabla 5. Porcentaje de Actividad Día vs Noche obtenido cada semana en protocolo **A**

Protocolo		Semana	Período del Día	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
A	LD 12:12 R[+]	Semana 1	Día	16%	23%	29%	25%	52%	51%	38%
			Noche	84%	77%	71%	75%	48%	49%	62%
	LD 12:12 rR[+]	Semana 2	Día	24%	21%	29%	28%	39%	38%	32%
			Noche	76%	79%	71%	72%	61%	62%	68%
	LD 12:12 rR[+]	Semana 3	Día	46%	24%	28%	28%	37%	31%	31%
			Noche	54%	76%	72%	72%	63%	69%	69%

Tabla 6. Índices de Diurnidad (ID) obtenidos semanalmente en protocolo A.

Protocolo		ID Degu 9 _Z	ID Degu 7 _Z	ID Degu 5 _Z	ID Degu 89 _{F2}	ID Degu 71 _{F2}	ID Degu 55 _{O2}	ID Degu 28 _{O2}
A	LD 12:12 R[+]	-0,65	-0,52	-0,40	-0,47	0,03	0,01	-0,23
	LD 12:12 rR[+]	-0,52	-0,57	-0,43	-0,43	-0,20	-0,22	-0,37
	LD 12:12 rR[+]	-0,10	-0,50	-0,42	-0,44	-0,25	-0,36	-0,37

Tabla 7. Porcentaje de Actividad Día vs Noche obtenido cada semana en protocolo D

Protocolo	Semana	Período del Día	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}	
D	LD 12:12 R[-]	Semana 1	Día	57%	37%	58%	57%	46%	54%	49%
		Noche	43%	63%	42%	43%	54%	46%	51%	
	LD 12:12 R[+]	Semana 2	Día	42%	41%	67%	55%	51%	56%	47%
		Noche	58%	59%	33%	45%	49%	44%	53%	
	LD 12:12 rR[+]	Semana 3	Día	57%	43%	67%	54%	44%	54%	49%
		Noche	43%	57%	33%	46%	56%	46%	51%	

Tabla 8. Porcentaje de Actividad Día vs Noche obtenido cada semana en protocolo C

Protocolo	Semana	Período del Día	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}	
C	LD 12:12 R[-]	Semana 1	Día	62%	37%	53%	49%	47%	53%	44%
		Noche	38%	63%	47%	51%	53%	47%	56%	
	LD 12:12 R[+]	Semana 2	Día	36%	35%	46%	31%	33%	53%	42%
		Noche	64%	65%	54%	69%	67%	47%	58%	
	LD 12:12 rR[+]	Semana 3	Día	60%	34%	59%	47%	36%	58%	45%
		Noche	40%	66%	41%	53%	64%	42%	55%	

Tabla 9. Índices de Diurnidad (ID) obtenidos semanalmente en protocolo E

Protocolo	ID Degu 9 _Z	ID Degu 7 _Z	ID Degu 5 _Z	ID Degu 89 _{F2}	ID Degu 71 _{F2}	ID Degu 55 _{O2}	ID Degu 28 _{O2}	
E	LL 12:12 R[-]	0,21	-0,03	0,18	0,20	0,12	0,16	-0,03
	LL 12:12 R[-]	0,08	-0,06	0,11	0,11	0,09	0,12	-0,06
	LL 12:12 R[-]	0,15	-0,02	0,14	0,07	0,06	0,21	-0,06
	LL 12:12 R[-]	0,15	0,00	0,09	0,03	-0,12	0,20	-0,07
	LL 12:12 R[-]	0,15	0,01	0,09	0,01	SD*	0,17	0,01
	LL 12:12 R[+]	0,10	0,36	0,39	0,00	SD*	0,41	-0,15
	LL 12:12 R[+]	-0,02	0,23	0,51	0,11	SD*	0,31	0,03
	LL 12:12 rR[+]	0,23	0,19	0,38	0,35	SD*	0,39	0,11

* Sin Datos (SD) ya que el degu 71_{F2} cortó los cables de la luz, por lo que fue retirado del ensayo.

Tabla 10. Diferencia porcentual en el tiempo de uso de la rueda al pasar de R[+] a rR[+]. (Valores negativos están destacados en rojo).

Protocolo	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
A	-7,0%	61,7%	69,2%	78,2%	78,2%	77,5%	72,4%
B	40,9%	36,9%	39%	57,2%	39,3%	42,6%	32,6%
C	10,3%	4,6%	10,6%	19,7%	3,7%	3,8%	0,4%
D	13,8%	-3,3%	27,6%	20,4%	13,6%	5,9%	8,6%
E	33,8%	11%	24%	40,7%	5,8%	38,6%	8,1%

Tabla 11. Diferencia porcentual de los Km recorridos por hora al pasar de R[+] a rR[+]. (Valores negativos están destacados en rojo).

Protocolo	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
A	8,2%	26,7%	51%	32,4%	6,9%	32%	21,6%
B	13,7%	26,8%	-28,3%	4,6%	20,5%	-2,2%	7,2%
C	-0,4%	-10,2%	21,7%	-14,9%	-8,3%	-34,4%	-38,7%
D	-12,4%	33,7%	100,6%	7,8%	22,8%	1,4%	-15,5%
E	19,9%	11,4%	-26,9%	7,5%	18,7%	-42,8%	-10,9%

Tabla 12. Porcentaje de Actividad Día vs Noche obtenida cada semana en protocolo D.

Protocolo	Semana	Período del Día	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}	
D	Semana 1	Día	61%	48%	59%	60%	56%	58%	48%	
		Noche	39%	52%	41%	40%	44%	42%	52%	
	Semana 2	Día	53%	47%	55%	56%	54%	56%	47%	
		Noche	47%	53%	45%	44%	46%	44%	53%	
	Semana 3	Día	58%	49%	57%	54%	53%	60%	47%	
		Noche	42%	51%	43%	46%	47%	40%	53%	
	Semana 4	Día	58%	51%	55%	52%	53%	60%	47%	
		Noche	42%	49%	45%	48%	47%	40%	53%	
	Semana 5	Día	58%	51%	55%	51%	SD*	59%	51%	
		Noche	42%	49%	45%	49%	SD*	41%	49%	
	LL 12:12 R[+]	Semana 6	Día	54%	68%	69%	51%	SD*	70%	42%
			Noche	46%	32%	31%	49%	SD*	30%	58%
		Semana 7	Día	54%	65%	78%	59%	SD*	70%	55%
			Noche	46%	35%	22%	41%	SD*	30%	45%
	LL 12:12 rR[+]	Semana 8	Día	56%	61%	69%	64%	SD*	69%	53%
			Noche	44%	39%	31%	36%	SD*	31%	47%

* Sin Datos (SD) ya que el degu 71_{F2} cortó los cables de la luz, por lo que fue retirado del ensayo.

Tabla 13. Porcentaje de alimento sobrante al finalizar cada semana del protocolo **A**

Protocolo		Semana	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
A	LD 12:12 R[+]	1	10,4%	8,9%	6,1%	7,5%	5,7%	7,9%	6,0%
	LD 12:12 rR[+]	2	1,1%	0,0%	1,8%	0,0%	0,0%	0,6%	0,8%
	LD 12:12 rR[+]	3	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%	1,1%	0,0%	1,3%

Tabla 14. Porcentaje de alimento sobrante al finalizar cada semana del protocolo **B**

Protocolo		Semana	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
B	LD 12:12 R[-]	1	0,0%	0,6%	0,0%	1,1%	0,0%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[+]	2	11,3%	9,9%	14,3%	8,6%	7,6%	9,5%	6,9%
	LD 12:12 rR[+]	3	0,5%	0,0%	1,1%	0,6%	0,0%	0,0%	0,0%

Tabla 15. Porcentaje de alimento sobrante al finalizar cada semana del protocolo **C**

Protocolo		Semana	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
C	LD 12:12 R[-]	1	0,5%	0,7%	0,0%	0,0%	1,1%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[+]	2	13,1%	9,8%	11,9%	8,3%	8,0%	6,9%	4,8%
	LD 12:12 rR[+]	3	0,4%	0,0%	0,6%	1,0%	0,0%	0,7%	0,0%

Tabla 16. Porcentaje de alimento sobrante al finalizar cada semana del protocolo **D**

Protocolo		Semana	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
D	LD 12:12 R[-]	1	0,0%	0,0%	0,4%	0,0%	0,8%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[+]	2	7,1%	10,0%	6,8%	12,6%	9,3%	8,1%	10,5%
	LD 12:12 rR[+]	3	0,4%	0,6%	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%

Tabla 17. Porcentaje de alimento sobrante al finalizar cada semana del protocolo **E**

Protocolo		Semana	Degu 9 _Z	Degu 7 _Z	Degu 5 _Z	Degu 89 _{F2}	Degu 71 _{F2}	Degu 55 _{O2}	Degu 28 _{O2}
E	LD 12:12 R[-]	1	0,0%	0,8%	0,0%	0,4%	0,6%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[-]	2	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,7%	1,0%	0,0%
	LD 12:12 R[-]	3	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[-]	4	0,8%	0,4%	0,0%	1,1%	0,0%	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[-]	5	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%	SD*	0,0%	0,0%
	LD 12:12 R[+]	6	10,0%	8,3%	7,5%	5,8%	SD*	6,7%	10,7%
	LD 12:12 R[+]	7	10,7%	6,5%	9,5%	8,6%	SD*	11,1%	18,1%
	LD 12:12 rR[+]	8	0,0%	0,6%	1,1%	0,0%	SD*	1,4%	2,7%