



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

¿ CORRELATOS HORMONALES DE LA JERARQUÍA  
EN PESO ENTRE LAS CRÍAS HERMANAS DEL  
CONEJO EUROPEO ?

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :  
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

P R E S E N T A  
Q.I. BERTHA MAQUEDA HERNANDEZ

TUTOR: DRA. ROBYN E. HUDSON

ASESORES:

DR. JAVIER VELÁSQUEZ MOCTEZUMA  
DRA. SOCORRO RETANA MARQUEZ  
DR. VICENTE DÍAZ SÁNCHEZ  
DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ

MÉXICO D.F.

MAYO DE 2002

La maestría en Biología Experimental con número de registro 309-0 de la Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa se encuentra dentro del padrón de excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Mi agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca-credito otorgada, número 142074.

Este trabajo se realizó con el apoyo de los laboratorios de: Biología de la Reproducción del Departamento de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Hormonas y Esteroides de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubiran, Psicobiología del Desarrollo del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, dentro del proyecto apoyado por CONACyT número 25889-N y PAPIIT-IN217100.

# **A G R A D E C I M I E N T O S**

**A la Dra. Robyn E. Hudson por la dirección de esta tesis.**

**Al Dr. Javier Velázquez Moctezuma por recibirme en su laboratorio y por el apoyo brindado en la realización de esta tesis.**

**A la Dra. Socorro Retana Marquez por sus comentarios y sugerencias en esta tesis.**

**A la Dra. Margarita Martínez Gómez por las asesorías brindadas en esta tesis.**

**Al Dr. Vicente Díaz Sánchez por recibirme en su laboratorio.**

**Al Dr. David Díaz Pontones por su paciencia y orientación en esta tesis.**

**A la Dra. Anabel por sus consejos y comentarios brindados desinteresadamente.**

**A todos los doctores, profesores de la maestría por compartir sus conocimientos: Manuel, Conchita, David, Fernando, Jose Luis, Laura, Socorro y Salvador.**

**A Lourdes y Roberto por su ayuda en la realización de este trabajo. Instituto Nacional de la Nutrición.**

**Al personal del bioterio de la UAMI por apoyarme con mis conejos.**

**Al personal del laboratorio de biomédicas: Caro, Emma, Adela, Valeria, Luis , Maricela etc, por recibirme siempre con una sonrisa.**

**A todos mis amigos y compañeros de la maestría: Lolis, Ponchito, Alfonso, Javis, Pili, Sergio, Rocio, Bernardo, Daniela, Angel, Linda etc, por sus comentarios, consejos, sugerencias, gracias.**

**A todas mis amigas y compañeros del CIF-TLAXCALA gracias por sus consejos y comentarios.**

***Cualquiera que sea la situación  
Por la que estas atravesando,  
Ten la plena confianza de que el señor se  
levantara en medio de ese problema y será  
tu refugio, así que no pierdas la paz sino  
confía en Dios***

***Salmo 31.2-3***

***Gracias a Dios por permitirme  
Concluir esta etapa de mi  
vida***

***GRACIAS***

***A mi familia por su cariño y amor***

***A Carmen y Norma por estar siempre conmigo  
apoyandome, por ser como son  
mis amigas***

***A doña Rebe por preocuparse por mi***

***A Sixto por compartir momentos tristes y alegres  
conmigo.***

# I N D I C E

	<b>Pags.</b>
<b>Resumen</b>	<i>i</i>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Competencia entre hermanos</b>	<b>2</b>
<b>1.2 El concepto de jerarquía</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Estrés</b>	<b>5</b>
<b>1.4 Correlatos fisiológicos</b>	<b>7</b>
<b>1.4.1 Testosterona</b>	<b>8</b>
<b>1.4.2 Testosterona en crías</b>	<b>10</b>
<b>1.4.3 Corticosterona</b>	<b>11</b>
<b>1.4.4 Corticosterona en crías</b>	<b>13</b>
<b>1.5 El conejo europeo como modelo para estudiar la jerarquía en peso</b>	<b>15</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>17</b>
<b>2.1 Conducta maternal del conejo europeo</b>	<b>17</b>
<b>2.2 Conducta de los gazapos</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Competencia por la leche</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Jerarquía en peso</b>	<b>19</b>
<b>2.5 Testosterona y corticosterona en gazapos</b>	<b>20</b>
<b>3. Hipótesis</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Predicciones</b>	<b>22</b>
<b>4. Objetivo general</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Objetivos específicos</b>	<b>23</b>

<b>5. Metodología</b>	<b>24</b>
5.1 Animales	24
5.2 Diseño experimental	24
5.2.1 Evaluación de jerarquía en peso	24
5.2.2 Evaluación de crecimiento	25
5.2.3 Cuantificación de testosterona y corticosterona	26
5.3 Análisis estadístico	29
<b>6. Resultados</b>	<b>31</b>
6.1 Características de las camadas	31
6.1.1 Número, sexo y peso de los gazapos al nacimiento	31
6.1.2 Mortalidad	31
6.1.3 Crecimiento	31
6.2 Jerarquía en peso entre los gazapos de cada camada	41
6.3 Concentración de testosterona	42
6.3.1 En relación al sexo	42
6.3.2 En relación al peso final	42
6.3.3 En relación al rango en peso dentro de la camada	42
6.4 Concentración de corticosterona	46
6.4.1 En relación al sexo	46
6.4.2 En relación al peso final	46
6.4.3 En relación al rango en peso dentro de la camada	46
<b>7. Discusión</b>	<b>50</b>
<b>8. Conclusiones</b>	<b>54</b>
<b>9. Bibliografía</b>	<b>55</b>

## RESUMEN

Un problema central en el estudio de la conducta y fisiología se refiere al origen y naturaleza de las diferencias entre los individuos. Mientras que la influencia de los factores genéticos y el medio ambiente físico en moldear las diferencias ha recibido bastante atención, en mamíferos un aspecto conspicuo del medio ambiente social temprano, como es la presencia y competencia entre hermanos, no ha sido bien investigado. Tampoco se han descrito las implicaciones fisiológicas que la competencia por un recurso ocasiona en el desarrollo de ellos.

El conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) es un buen modelo para evaluar las interacciones entre **hermanos**, debido a que la hembra muestra una conducta materna inusual y contrastante al patrón conductual característico de la mayoría de los mamíferos. En el conejo las crías son amamantadas por la hembra durante 3 a 5 minutos cada 24 horas, lo que puede favorecer notablemente la rivalidad entre las crías hermanas que compiten por la ingesta de leche. Dentro de una camada el peso al nacimiento varía considerablemente y está correlacionado positivamente con ingesta de leche, crecimiento y sobrevivencia; por lo que en este estudio se trató de determinar si existía una relación entre la **jerarquía en peso** (como indicador de competencia) y **las concentraciones de testosterona y corticosterona** (indicadores clásicos de dominancia y estrés respectivamente) en los gazapos de la misma camada.

Para cumplir con el objetivo de este trabajo, se determinó en camadas del conejo doméstico el peso de las crías al nacimiento, la ingesta total de leche, el peso final y la sobrevivencia de las crías durante la primera semana postnatal, las concentraciones de testosterona y corticosterona en el día 8 postnatal al igual que el sexo de cada gazapo.

Se obtuvieron 10 camadas de las cuales nacieron 82 gazapos, 38 machos y 33 hembras sobrevivientes. Los datos fueron analizados por correlaciones de Pearson y solo se empleo el coeficiente de Spearman para correlacionar los rangos entre peso inicial y final dentro de la misma camada. Las diferencias entre sexos se analizaron por pruebas de *t*-Student para muestras independientes.

Los resultados mostraron correlaciones positivas entre peso al nacimiento, ingesta total de leche, peso final e índice de conversión de la leche a biomasa, además de la existencia de una jerarquía en peso entre los gazapos de la misma camada.

Sin embargo no se encontraron evidencias de una relación directa entre la jerarquía en peso y las concentraciones de testosterona y corticosterona.

Los resultados del estudio confirmaron que los gazapos que nacieron con mayor peso al nacimiento tienen mayor probabilidad de sobrevivir, fueron los más pesados y presentaron concentraciones elevadas de corticosterona al final del experimento. También, mostraron que los gazapos de ambos sexos producen testosterona y corticosterona en cantidades detectables durante la primera semana de vida, por lo que los gazapos son un modelo apto para realizar estudios sobre la fisiología hormonal en etapas muy tempranas del desarrollo.

## 1. Introducción

En la naturaleza la competencia entre los individuos toma muchas formas dentro y entre las especies. La competencia es definida por los ecólogos como la demanda activa de dos o más individuos de la misma especie en el mismo nivel trófico para un recurso o requerimiento, que está potencialmente limitado (Wilson 1980). Wilson clasifica a la competencia en dos tipos: lucha y disputa. La primera es explotadora, el ganador es quién utiliza el recurso antes, sin respuestas de comportamiento específica hacia los otros competidores que pueden estar en la misma zona. Si hubiese una pelea entre los competidores, quedándose el ganador con el recurso, entonces el proceso sería de competencia por disputa.

La teoría de la biología de poblaciones sugiere que el fenómeno de competencia está dividido en dos grandes clases: *competencia sexual* y *competencia por recursos*. La competencia sexual es observada cuando los miembros de un grupo compiten por oportunidades de apareamiento para poder reproducirse. La competencia sexual es ejemplificada por la violencia de los machos en la estación de apareamiento: la lucha con los cuernos de los carneros, ciervos y antílopes machos, los espectaculares despliegues y contiendas entre machos de la perdiz blanca, las batallas de los pesados elefantes marinos por la posesión de los harenes y muchos ejemplos más (Wilson 1980). La competencia por recursos se observa por ejemplo entre crías de la misma camada por la leche, principal recurso postnatal en mamíferos. Además se ha propuesto que las primeras interacciones entre hermanos se inician en la etapa de blastocito en el momento de la implantación a la pared uterina de la madre; específicamente en especies politocas donde la competencia se centra en la supervivencia mediante la obtención de los mejores sitios de implantación y de nutrientes (Mock y Parker 1997).

Aunque la agresión resulta de la competencia por recursos, no toda la competencia involucra agresión. Los organismos que usan siempre el mismo recurso limitado quizá no lleguen a interactuar con los demás contrincantes (Drickamer et al. 1982).

Las diferencias en la habilidad para competir proporcionan un medio por el cual la selección natural actúa (Drickamer et al. 1982).

### 1.1 Competencia entre hermanos

Uno de los grandes temas en la biología y psicología se refiere al origen y naturaleza de las diferencias entre los individuos. Entre los diversos factores que contribuyen a moldear las diferencias conductuales y fisiológicas de un individuo durante su desarrollo, se considera al *ambiente social*, que incluye a la competencia.

En los seres humanos una fuente importante de las diferencias entre hermanos es la competencia por recursos familiares. Las disputas por estos recursos, especialmente por el afecto de los padres, crean rivalidades. En la naturaleza, cualquier causa recurrente de conflicto tiende a propiciar adaptaciones que aumentan las posibilidades de salir victorioso. En sus esfuerzos por obtener superioridad competitiva, los hermanos utilizan las ventajas físicas como el tamaño y la fuerza corporal (Sulloway 1997).

En los vertebrados, la mayoría de los trabajos sobre la competencia por recursos entre crías hermanas han sido realizados en aves, en donde el fratricidio (muerte de un infante como resultado de la agresión abierta de su hermano o medio hermano) ha recibido considerable interés por varias razones: Primera, en la mayoría de los pájaros la nidada es relativamente fácil de observar y existe bastante literatura sobre su biología basada en estudios de campo de diversas especies. Segunda, las aves tienden a ser monógamas y por consiguiente el fratricidio involucraría a verdaderos hermanos, y tercera, las aves jóvenes requieren una gran cantidad de alimento durante las primeras semanas del desarrollo lo que resulta en altos niveles de competencia entre los hermanos de la misma nidada (Mock et al. 1990).

La *competencia entre hermanos mamíferos* ha sido poco estudiada y pocas veces se han considerado las consecuencias de las interacciones fraternales durante el desarrollo del individuo (Sulloway 1997). En una reciente

revisión, Mock y Parker (1997) mencionan que “la rivalidad entre hermanos de mamíferos probablemente se inicia más temprano (como embriones) y se alarga (hasta la edad adulta) más que en aves”. Por ejemplo, en las crías del cerdo doméstico (*Sus scrofa*) se encontró que las crías más pesadas al nacer pelean más en promedio que las ligeras. Los lechones ganadores de la pelea con sus hermanos durante los primeros días de vida fueron los más pesados al nacer y que los lechones que ganaron más peso en las tres primeras semanas de vida, aseguraron, defendieron y consistentemente succionaron una teta específica (usualmente una de las más anteriores), diferente a las succionadas por sus hermanos menos exitosos. También se correlacionó el orden de nacimiento y porcentaje de mortalidad; los primeros lechones que nacen tienen mayor oportunidad de sobrevivir, quizás porque tienen la oportunidad de ingerir el primer calostro, moviéndose de teta en teta y succionando de cada una de ellas (Hartsock y Graves 1976). El calostro es la primera secreción láctea postparto, es una leche rica en proteínas como factores de crecimiento y algunos compuestos que aceleran la maduración del tracto digestivo y órganos internos; es de gran importancia en el desarrollo de los neonatos porque mediante éste la madre transfiere resistencia a las enfermedades (Collier 1998).

Se sabe que el zorro del ártico (*Alopex lagopus*) y el zorro rojo (*Vulpes vulpes*) practican el fratricidio. Macpherson (1969) encontró en el zorro del ártico, que el número de cicatrices placentarias excede en gran medida al tamaño de la camada postdestete. De lo cual, él concluyó que la pérdida parcial de la camada es común. En el zorro rojo se ha observado que el índice de mortalidad entre hermanos es extremadamente alto, sugiriendo la existencia de fratricidio facultativo, el cual no ha sido descrito en detalle (Mock y Parker 1997).

También la literatura menciona manifestaciones de competencia por alimento como una característica prominente de las interacciones fraternales en las camadas de varias especies de roedores (Mendl 1988).

A pesar de los ejemplos antes descritos, hay poca información sobre la competencia entre hermanos mamíferos, y poco se ha descrito acerca de las

implicaciones fisiológicas que la competencia por un recurso ocasiona en el desarrollo de ellos.

Probablemente, una consecuencia del proceso de competencia es el desarrollo de jerarquías sociales entre hermanos que compiten por un recurso limitado.

## 1.2 El concepto de jerarquía

En términos de sociobiología, "*jerarquía*" indica la dominancia de un miembro de un grupo sobre otro, medida por su superioridad en contiendas agresivas y el orden en acceso a alimento, parejas y sitios de descanso u otros objetivos que promueven su sobrevivencia y éxito reproductivo (Wilson 1980). Muchos de los animales que viven en grupos forman jerarquías sociales, en la cual un animal es el dominante y los demás son subordinados. El orden de dominancia en ocasiones es llamada *jerarquía de dominancia social* (Wilson 1980). En 1935 Schjelderup-Ebbe (citado por Manning y Dawkins 1998) introduce por primera vez el concepto de jerarquía de dominancia social, utilizando un grupo de gallinas domésticas. Él observó el desarrollo de un orden jerárquico donde una gallina emergía gradualmente como dominante, de manera que ella podría desplazar a las demás.

En jerarquías de dominancia estables, los individuos dominantes pueden predecir y controlar activamente el resultado de las interacciones sociales, ellos tienen acceso a alimento, apareamiento y otros recursos prioritariamente. En tales situaciones se incrementa la fertilidad y la salud de los individuos dominantes, mientras sucede lo contrario en los individuos subordinados. (von Holst 1998).

### 1.3 Estrés

El término "estrés" describe un estado de homeostasis alterada. Las causas son fuerzas perturbantes definidas como "estresores" contrariamente, la fuerza para neutralizar los efectos de los estresores y restablecer la homeostasis es llamada "respuesta adaptativa" (Johnson et al. 1992).

La experiencia del estrés es común a todos los organismos. La percepción de los cambios físicos o ambientales positiva o negativamente, estimula una serie de cambios fisiológicos que pueden ser considerados como adaptativos al organismo. Lo importante de esto es la liberación de los glucocorticoides por las glándulas adrenales que sirven para preparar al organismo a los cambios físicos y ambientales (Herman y Cullinan 1997).

La exposición a un estresor (físico o psicológico) produce en el organismo un proceso fisiológico que capacita al organismo para enfrentarse o sobrevivir al estresor (por ejemplo incremento en la velocidad cardíaca, respiración y metabolismo). Uno de los cambios fisiológicos prominentes en la respuesta a un estresor es el incremento en la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA; Fig. 1) y el incremento en los glucocorticoides circulantes, junto con el aumento en la actividad del sistema nervioso simpático (Smith y French 1997).

La respuesta del HPA depende de varios factores como: tipo de especie, duración del estrés, edad y sexo del animal. Por ejemplo, un estrés crónico disminuye la concentración plasmática de la hormona luteinizante (LH) que tiene como consecuencia la interrupción de la función reproductiva.

Situaciones potenciales estresantes, pueden tener como consecuencia que los sujetos subordinados de un grupo reciban agresiones por parte de los sujetos superiores en el orden social. Contrariamente, mantener una posición dominante puede ser estresante, se sabe que animales (monos) dominantes son propensos a presión sanguínea alta y ataques cardíacos asociados a una sobreactividad simpático-adrenal (Vellucci 1997).

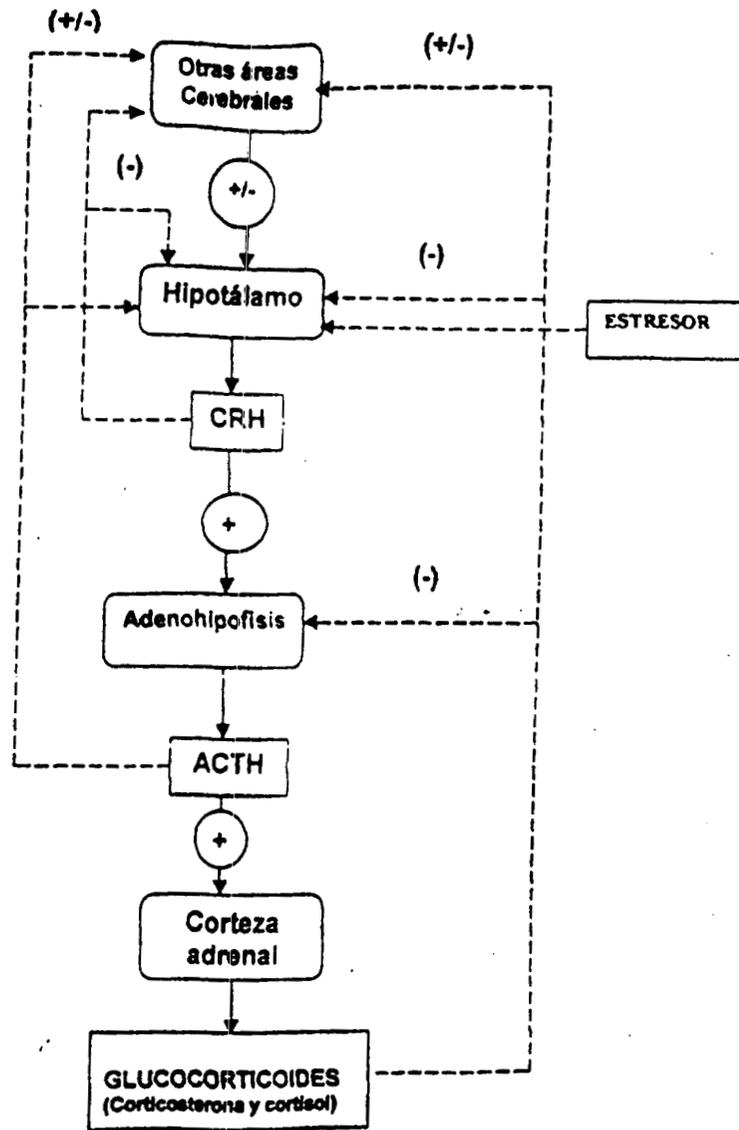


Figura 1. Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA; modificado de Brown 1994)

Un estímulo estresante induce la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) dentro del sistema portal de la pituitaria. Así, la CRH estimula la liberación de la hormona adrenocorticotropica (ACTH). Esos péptidos (como ACTH y CRH) estimulan la liberación de los glucocorticoides adrenales (cortisol en primates y corticosterona en roedores). La actividad dentro del eje es regulada por asas de retroalimentación negativa, así los glucocorticoides actúan a varios niveles inhibiendo la síntesis de CRH y ACTH.

—→ Estimulación; - - -→ Inhibición.

## 1.4 Correlatos fisiológicos

Diversos estudios han demostrado en individuos de diferentes especies, correlaciones entre el grado de dominancia o subordinación y algunas variables fisiológicas asociadas con el estrés. Ely y Henry en 1978 reportaron que ratones dominantes y subordinados responden al medio ambiente con diferente patrón neuroendocrino: la presencia de machos dominantes influye en la respuesta de los subordinados por ejemplo, suprimiendo las enzimas para la síntesis de catecolaminas y elevando las concentraciones de corticosterona, por el contrario, los machos subordinados influyen en la respuesta de los dominantes quienes incrementan las enzimas para catecolaminas. Dicho patrón está asociado al perfil conductual, condición física y tiempo que llevan como dominantes o subordinados.

Cuando una jerarquía social se ha establecido, las diferencias conductuales entre los dominantes y los subordinados persisten, mientras que las diferencias en los parámetros endocrinos pueden desaparecer (Sachser 1987; Sachser y Lick 1989).

En las comunidades de conejos europeos silvestres (*Oryctolagus cuniculus*) ambos sexos establecen y mantienen un orden jerárquico, mediante intensas peleas. Las hembras y machos que ganan un rango social alto, al menos al inicio de su segunda estación de apareamiento, tienen mayor tiempo de vida saludable que los individuos subordinados. Machos dominantes tienen mayor masa corporal y frecuencia cardíaca más baja que individuos subordinados (von Holst et al. 1999).

Estudios realizados en aves y mamíferos que viven en grupos indican que los animales dominantes generalmente están bien alimentados y saludables, mientras que los subordinados pueden ser poco saludables y sufrir alta mortalidad (Drickamer et al. 1982).

Las interacciones sociales tienen una profunda influencia sobre los parámetros endocrinos en mamíferos. Cuando animales macho son confrontados ocurren amenazas y peleas. El inicio de tal confrontación es caracterizado por la

activación del sistema adrenocortical en todos los participantes. La subsecuente diferenciación en ganadores y perdedores generalmente corresponde a diferencias en los perfiles endocrinos; los animales victoriosos muestran concentraciones de testosterona más altas y concentraciones de glucocorticoides más bajas que los perdedores (Sachser y Lick 1989).

Las hormonas son mensajeros químicos producidos por glándulas especializadas en el organismo. Las hormonas coordinan la fisiología y conducta de un animal mediante la regulación, integración y control de su función corporal. Esta función hormonal dual asegura que la conducta de apareamiento ocurra cuando los animales tienen gametos maduros para la fertilización. Además las hormonas pueden afectar el crecimiento y desarrollo neuronal, por lo que la presencia o ausencia de éstas afecta la conducta, pero la conducta también puede influenciar las concentraciones hormonales, es decir la interacción entre las hormonas y la conducta es bidireccional (Nelson 1995).

#### 1.4.1 Testosterona

La testosterona (T) es un esteroide de 19 átomos de carbono. En el macho es sintetizada a partir de la androstenediona en las células de Leydig del testículo. En la hembra, el folículo ovárico emplea la androstenediona producida por las células tecales como el precursor que la convierte a T en las células de la granulosa para su subsecuente aromatización a  $17\beta$ -estradiol (Brown 1998). La T es sintetizada por los testículos de embriones en el humano y otras especies durante el desarrollo fenotípico masculino (Frederick et al. 1994). La T tiene un amplio espectro de acciones biológicas: promueve la espermatogénesis, el crecimiento de órganos sexuales y algunos otros caracteres sexuales, además organiza y activa conductas reproductivas, incluyendo la agresión (Wingfield et al. 2000). Por ello, es el principal andrógeno de la vida pre- y postnatal.

En grupos de cobayos (*Cavia porcellus*) que cohabitan por varios meses o años, se han encontrado estructuras sociales estables con los machos toman

diferente posición social. En los grupos donde suceden amenazas y peleas regularmente, la concentración plasmática de T de los dominantes es más alta que en los subordinados (Sachser 1987; Sachser y Lick 1989).

La T testicular es necesaria para el desarrollo y mantenimiento de la agresión en la rata macho. Si la T testicular está ausente, se presenta poca agresión en ratas machos cuando son encerrados con una hembra intacta o si son expuestos a pruebas de competencia por alimento (Albert et al. 1990). En pruebas de competencia por alimento los machos castrados y con implantes de T son más agresivos y más exitosos que los machos castrados sin implantes de T (Albert et al. 1988; 1989).

En pruebas de competencia por alimento, las ratas hembras parecen mostrar agresión social dependiente de T, homóloga a la que exhiben los machos. Cuando las ratas hembras son ovariectomizadas e implantadas con tubos vacíos ó llenos de T y se someten a pruebas de competencia por alimento se observa que las hembras con implantes de T son más agresivas y más exitosas en mantener el acceso al alimento que sus contrincantes sin T (Albert et al. 1989).

En hienas manchadas (*Crocuta crocuta*) recién nacidas se han observado concentraciones elevadas de andrógenos, desarrollo motor precoz y aparición completa de los dientes frontales. La T es típicamente más alta en los machos que en las hembras durante el primer mes de vida postnatal. Se han observado peleas violentas entre los hermanos machos al nacimiento provocando la muerte de uno de ellos, mientras que en camadas de sexos diferentes ambos hermanos sobreviven (Frank et al. 1991), lo que muestra que el sexo puede ser determinante para la sobrevivencia.

En conejos europeos la dominancia social parece ser dependiente de las concentraciones de T; usualmente éstas concentraciones son altas en los machos dominantes que muestran mayor agresividad y son exitosos en las confrontaciones con sus rivales. Los animales castrados generalmente disminuyen su agresión y subsecuentes inyecciones de T restablecen la conducta agresiva (von Holst 1998).

Girolami et al. (1997) investigaron en conejos machos la posible relación entre conductas agonistas (ataque, caza y persecución), las concentraciones plasmáticas de T y la unión del estradiol (E) al hipotálamo, bajo condiciones seminaturales. Muestras sanguíneas fueron tomadas antes de que los animales fueran liberados en el área de experimentación donde interaccionaron por 11 días. En el día 12 se tomaron las segundas muestras sanguíneas y los animales fueron sacrificados. Los resultados mostraron que las conductas agonistas están asociadas con incrementos en la concentración de T y de E al hipotálamo.

#### 1.4.2 Testosterona en crías

Un estudio realizado en ratas para estimar las concentraciones de T en los tres últimos días de gestación y durante el primer día postnatal, mostró que ambos sexos producen T y que las concentraciones no varían significativamente en los diferentes tiempos. Sin embargo, en los machos las concentraciones de T son altas comparativamente a 1 y 3 horas después del nacimiento. Pero a las 6, las 12, las 18 y a las 24 horas no hay diferencias significativas en los sexos aunque persiste la tendencia, como se observa en la Tabla 1 (Slob et al. 1980).

**Tabla 1. Concentraciones de T (ng/ml) a diferentes horas después del nacimiento en ratas neonatas**

<b>Horas</b>	<b>Hembras</b>	<b>Machos</b>
1	0.31	3.03
3	0.22	2.24
6	0.33	1.31
12	0.15	0.52
18	0.19	0.50
24	0.11	1.00

(Modificada de Slob et al. 1980)

Se ha descrito que las concentraciones de T se incrementan en la rata macho durante las 2 primeras horas después del nacimiento y lo cual es importante para el proceso de diferenciación sexual. Para estudiar la influencia de los factores ambientales sobre la T postnatal ratas machos fueron sometidas a varios tratamientos como frío, olor de éter y separación de la madre. A las 2 horas después del nacimiento las crías control mostraron altas concentraciones de T (13000 ng/ml) contrariamente, las crías sometidas al frío o anestesiadas con éter presentaron concentraciones bajas (2000 y 3000 ng/ml). A las 4 horas, las crías sometidas al frío mostraron elevadas concentraciones de T (7000 ng/ml), (Matuszczyk et al. 1990). Las concentraciones de T descritas en este artículo son muy elevadas comparadas con los valores reportados en los otros artículos citados.

#### 1.4.3 Corticosterona

Los glucocorticoides son hormonas de la zona fasciculada de la glándula adrenal. Los más importantes biológicamente son el cortisol y la corticosterona, cuya presencia varía de especie a especie (von Holst 1998). Por sus efectos en el metabolismo de carbohidratos y proteínas, todas las hormonas de la zona fasciculada de las glándulas adrenales son agrupadas como glucocorticoides. Los glucocorticoides incrementan la producción de glucosa a partir de proteínas, la cual es almacenada en el hígado como glucógeno (gluconeogénesis), ello incrementa la disponibilidad de glucosa para los procesos energéticos durante el estrés. Los glucocorticoides inhiben los procesos inflamatorios y suprimen la respuesta inmunológica por su unión a receptores en el timo y a células sanguíneas (von Holst 1998). Además, los glucocorticoides son las principales hormonas reguladoras del metabolismo de carbohidratos y lípidos, función muscular; constituyen un mecanismo de defensa al estrés en mamíferos (Meaney et al. 1993).

Normalmente la secreción de los glucocorticoides ocurre bajo un ritmo circadiano bien establecido, las concentraciones de glucocorticoides en suero son

máximos al despertar en especies diurnas como el hombre y en animales nocturnos como la rata (Buckingham et al. 1997).

Los glucocorticoides son liberados en altas concentraciones en situaciones de estrés tal incremento induce un mecanismo de retroalimentación negativa al cerebro e inhibe la sobreactividad de la respuesta al estrés, protegiendo de esta manera al organismo de su propia respuesta endocrina (Brown 1994). Las glándulas adrenales de ovejas y primates incluyendo el hombre secretan principalmente hidrocortisona; los conejos y las ratas producen corticosterona; las vacas, los hurones, los gatos y los perros secretan una mezcla de ambas (Kass et al. 1954).

La corticosterona (Cor) es un esteroide de 21 átomos de carbono. Schuurman en 1980 describió que ratas peleadoras que han sufrido derrotas, uno o dos días después regresan a concentraciones basales de Cor (aprox. entre 2 y 5 µg/dl) igual que las ganadoras en las peleas. Sin embargo, diferencias entre perdedoras y ganadoras son mencionadas:

1. Durante los encuentros agresivos y horas después, las ratas perdedoras mostraron altas concentraciones de Cor (aprox. entre 28 y 42 µg/dl). Las ganadoras también mostraron concentraciones elevadas de Cor (aprox. entre 20 y 28 µg/dl) pero éstas recuperaron su concentración basal inmediatamente después de remover al oponente.

2. Uno o dos días después de la derrota, las ratas que fueron derrotadas mostraron una exagerada respuesta pituitaria-adrenal (aprox. 28 µg/dl) al encuentro con un macho oponente, a pesar de la ausencia de pelea. Es decir las ratas perdedoras parecen presentar una respuesta adrenal inmediata que las ratas ganadoras.

Investigaciones realizadas en conejos silvestres encerrados bajo condiciones seminaturales durante un tiempo prolongado para estudiar la conducta social y la respuesta fisiológica al estrés, revelaron diferencias en la relación entre el rango social de los machos y las hembras y su actividad adrenocortical durante la estación reproductiva. Generalmente los machos que viven sin rivales dentro de su grupo tienen valores bajos de Cor (aprox. entre 250

y 275 ng/ml). Dependiendo del número de rivales subordinados la actividad adrenocortical de los machos dominantes aumenta con respecto a los subordinados. Las hembras que viven dentro de un grupo también tienen influencia sobre la actividad adrenocortical de los machos dominantes. Contrariamente a los machos, las hembras dominantes tienen generalmente menor actividad adrenocortical respecto a los animales de su grupo (aprox. 88 y 98 ng/ml de Cor para rango 1 y 3 respectivamente). Esta información indicó que la actividad adrenocortical en conejos dominantes depende de la composición y estabilidad de su grupo (von Holst 1998).

#### 1.4.4 Corticosterona en crías

En 1962 Thornton y colaboradores estudiaron la influencia de la edad en la secreción de 17-hidroxicorticoides (17-HOCS), cortisol y Cor en ratas, cobayos y conejos; los datos se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2. Concentraciones de glucocorticoides ( $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ) en diferentes especies**

<b>Especie</b>	<b>Edad</b>	<b>Cortisol</b>	<b>Corticosterona</b>	<b>17-HOCS</b>
RATAS	28 días	13	12	1
	Maduras	8	18	2
COBAYOS	1-24 horas	45	44	124
	1-2 días	52	68	108
	Maduros	24	12	25
CONEJOS	15 días	11	5	0
	3 meses	7	5	0

(Modificada de Thornton et al. 1962)

En 1972 Malinowska et al. midieron la concentración de Cor en ratas neonatas, reportando valores de 12.6 µg/100 ml, concentración que declinó entre el 2º y 3er día postnatal. En cobayos, que secretan principalmente cortisol encontraron valores hasta de 100 µg/100 ml en las primeras 24 horas (para gazapos ver en antecedentes apartado 2.5)

Estudios realizados en ratas neonatas sobre la respuesta del eje (HPA) al estrés han mostrado la existencia de un período durante el cual la respuesta del HPA es disminuida por estímulos nocivos. Para estudiar la funcionabilidad del eje HPA durante este período, las crías fueron sometidas a diferentes estímulos para inducir la secreción de Cor como la exposición a choques eléctricos, vapores de éter o hipoxia. Los datos se presentan en la Tabla 3 (Walker et al. 1986).

**Tabla 3. Concentraciones de Cor (ng/ml) en ratas neonatas sometidas a diferentes estresores**

<b>Días</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>18</b>	<b>21</b>
Control	8.40	3.4	1.54	2.32	2.78	18.1	33.5
Éter	11.74	9.16	4.8	5.71	17.08	92.07	107.3
Control	4.5	3.8	1.7	1.8	3.0	15.1	24.6
Choque eléct	ND	11.1	11.26	11.49	18.9	14.9	ND
Control	4.99	1.48	1.77	4.01	20.3	47.11	127.9
Hipoxia	26.9	9.7	6.32	14.3	50.9	153.2	199.7

(Modificada de Walker et al. 1986). ND, no determinado

Posteriormente, (1991) Walker y su grupo observaron diferencias en el patrón de secreción de la hormona adrenocorticotropica (ACTH) y de Cor en respuesta a varios estresores (Tabla 4). Ambos resultados mostraron que la capacidad funcional del eje HPA para responder al estrés está presente a lo largo de la vida neonatal.

**Tabla 4. Concentraciones de Cor ( $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ ) en ratas neonatas a partir de los 10 días postnatal después de ser sometidas a diferentes estímulos**

Tiempo (min)	10	15	30	60
Vehículo	2.1	3.1	2.7	3.1
CRF	2.1	3.5	5.9	8.3
Eter	2.3	3.3	4.4	4.2
Eter + CRF	3.1	3.5	5.9	7.9

(Modificada de Walker et al. 1991). El valor basal de Cor fue de  $1.4\ \mu\text{g}/100\text{ ml}$ .

### 1.5 El conejo europeo como modelo para estudiar la jerarquía en peso

Han sido pocos los estudios realizados sobre las relaciones entre hermanos mamíferos neonatos posiblemente debido a razones prácticas. Muchos mamíferos que tienen camadas grandes (la situación ideal para el estudio de las relaciones entre hermanos) son nocturnos y tienen a sus crías en nidos o madrigueras subterráneas, características que dificultan las observaciones. El cuidado maternal intenso de la mayoría de los mamíferos hace difícil estudiar las relaciones entre hermanos, ya que la continua presencia de la madre y su frecuente y compleja atención hacia las crías hace imposible separar o discriminar la influencia materna de la influencia de los hermanos sobre su desarrollo.

El conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) es un buen modelo para evaluar las interacciones entre las crías, debido a que la hembra muestra una conducta materna inusual y contrastante al patrón conductual característico de la mayoría

de los mamíferos (Hudson et al. 1998; 2000a). En el conejo, las crías son amamantadas por la hembra durante unos pocos minutos cada 24 horas, lo que puede favorecer notablemente la rivalidad entre las crías hermanas que parecen competir por la ingesta de leche (Drummond et al. 2000). Esto permite la observación y la manipulación de las crías sin interrupción de la relación normal madre-cría. Por el cuidado limitado de la madre hacia las crías, probablemente existe poca influencia de la hembra sobre la competencia de sus crías por recursos como la leche.

Además, el conejo europeo es un animal clásico de laboratorio para el cual existe mucha información sobre su fisiología y conducta y es una de las pocas especies de mamíferos que han sido ampliamente estudiadas en el campo (revisado en Hudson y Distel 1989; Hudson y Altbäcker 1994; Hudson et al 1998; Jilge y Hudson 2001).

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Conducta maternal del conejo europeo**

La conducta maternal en el conejo representa una serie de eventos bien organizados con preciso control hormonal y circadiano. Hacia el final del período de gestación, aproximadamente en el día 31 después del apareamiento, la hembra normalmente escarba una madriguera de crianza, en la cual construye un nido de hierba seca y pelo que desprende de su pecho, vientre y flancos. La hembra también defeca en el nido antes y varios días después del parto (Hudson y Distel 1989; Hudson y Altbäcker 1994; Hudson et al. 1996; 1998; Hudson 1998; Jilge y Hudson 2001; Martínez-Gómez et al. 2002).

La hembra típicamente entra en estro postparto y puede aparearse casi inmediatamente después de haber acontecido el alumbramiento, lo que significa que ella frecuentemente está preñada y lactando. Esta capacidad de la hembra para dar origen a varias camadas en poco tiempo es la razón por la cual súbitamente destetan a las crías aproximadamente en el día 26 de vida postnatal, fenómeno que se asocia con el arribo de la próxima camada 4 o 5 días después, lo que significa que las crías tienen que ser iniciadas a una vida independiente con escasa asistencia de la madre (Lincoln 1974; Hudson y Altbäcker 1994; Hudson et al. 1996).

El parto es extremadamente rápido, entre 10 y 15 minutos para el nacimiento de 10 o más crías (Hudson et al. 1999). Inmediatamente después del parto, la hembra deja a sus crías y sólo regresa a la madriguera una vez en 24 horas para amamantarlas. El evento es muy corto, varía entre 3 a 5 minutos (Deutsch 1957; Zarrow et al. 1965; Hudson et al. 2000b).

### **2.2 Conducta de los gazapos**

Las crías al nacer son altriciales: con poco pelo, ojos y oídos externos cerrados, además de escasa coordinación motora. Por el día 7 de edad son

capaces de mostrar una respuesta de orientación limitada a un estímulo auditivo y pueden percibir cambios de la luz aunque no abren sus ojos antes del día 10. Las crías permanecen en el nido hasta los 13 a 18 días de edad (Hudson y Distel 1982).

Las crías muestran una conducta espontánea de gran actividad antes de la llegada de la madre para el amamantamiento, formando un grupo compacto y mantienen su cabeza fuera del material del nido. Esta conducta anticipatoria de exponerse fuera del nido parece ser muy importante para que las crías alcancen los pezones de la madre, lo que contribuye a optimizar el tiempo que la madre pasa con ellas (Hudson y Distel 1982; 1989; Hudson 1998; Jilge y Hudson 2001).

Cuando la madre entra en el nido las crías se muestran muy excitadas, levantan sus cabezas y a menudo vocalizan. Las crías pueden localizar los pezones en segundos mediante movimientos rápidos de su cabeza lado a lado entre el pelo del vientre de la madre (Hudson y Distel 1983; 1995; Hudson et al. 1996).

Las crías por su parte deben succionar tanta leche como les sea posible durante el corto tiempo de alimentación, por lo que son capaces de beber aproximadamente el 25% de su peso corporal en leche (Lincoln 1974; Hudson y Distel 1983; 1989; 1995; Hudson et al. 1996).

### 2.3 Competencia por la leche

En un primer estudio realizado en el laboratorio sobre la competencia entre crías de conejo se cuantificó la cantidad de leche ingerida, sobrevivencia y crecimiento de cada cría durante las tres primeras semanas de vida postnatal, encontrando evidencias de que el crecimiento y la sobrevivencia de las crías está limitado por recursos maternos (Drummond et al. 2000). El 17.4% de las crías murió; se observó que las crías crecen y sobreviven de acuerdo al tamaño de la camada y a su peso individual al nacimiento. La mortalidad fue mayor en camadas más grandes y las crías más pesadas al nacimiento fueron las crías más pesadas al final. Las crías que murieron en el experimento fueron las de

menor peso al nacimiento y poco antes de su muerte. El sexo pareció no influir en el crecimiento, machos y hembras crecen igual. El análisis de la cantidad de leche ingerida reveló que aún cuando el aumento de peso está correlacionado positivamente con la cantidad de la leche ingerida por cada cría, diferentes crías crecen a diferente velocidad aún con la misma cantidad de leche.

Los resultados de ese trabajo mostraron que existe un crecimiento diferencial entre hermanos, sugiriendo que la competencia entre los hermanos por la leche materna es un factor para explicar tales diferencias (Drummond et al. 2000).

Si los gazapos constantemente están compitiendo por recursos como la leche, es evidente que no todas las crías serán beneficiadas óptimamente, es decir, en cada camada hay crías más o menos desarrolladas y probablemente con diferencias en su fisiología.

Además, la conducta anticipatoria que despliegan los gazapos antes de la llegada de la madre (Hudson y Distel 1982; 1989; Gilge y Hudson 2001) junto con la inherente competencia por el alimento a la que están expuestos, pueden ser considerados como estímulos externos capaces de inducir una respuesta fisiológica diferencial (tal vez cierto grado de estrés) entre las crías ganadoras (más pesadas) y perdedoras (más ligeras) en el proceso de competencia por la leche.

#### 2.4 Jerarquía en peso

Como ha descrito Drummond et al. (2000) previamente, existe una jerarquía estable en peso dentro de las camadas de los gazapos, de tal manera que un mayor peso al nacimiento confiere mayor probabilidad de sobrevivencia y un peso mayor al destete. En este trabajo el término jerarquía en peso se refiere a un orden, es decir al orden en peso con el que nacen los gazapos y que mantienen hasta el final del experimento y no a una jerarquía establecida mediante confrontaciones entre los gazapos.

## 2.5 Testosterona y corticosterona en gazapos

Veyssiere et al. (1975) midieron la T en el plasma de gazapos al nacimiento y encontraron concentraciones más altas en los machos ( $0.387 \pm 0.073$  ng/ml) que en las hembras ( $0.042 \pm 0.006$  ng/ml). Además, Berger et al. (1976) midieron la T cada 10 días en el plasma y testículo de conejo, desde el nacimiento a los 90 días de edad. La T varió poco al nacimiento hasta los 40 días ( $0.38$  ng/ml y  $0.46$  ng/ml respectivamente), incrementándose hasta los 60 días de edad ( $4.01$  ng/ml). Tiempo después los mismos investigadores (Berger et al. 1979) describieron que en el conejo macho al nacimiento la concentración de T (aprox.  $0.150$  ng/ml) y la dihidrotestosterona son bajas, ambas hormonas alcanzan su máxima concentración entre los 60 y 90 días (aprox.  $3.4$  y  $5.0$  ng/ml), entonces declina la concentración y permanece baja después de 120 días. Más tarde (1982) Berger et al. reportó en conejos macho valores de T circulante al nacimiento de  $0.27 \pm 0.062$  ng/ml, los cuales variaron poco hasta los 40 días ( $0.375 \pm 0.127$  ng/ml).

Para gazapos neonatos reportaron altas concentraciones de cortisol de  $15$  ng/ml a los 3 y 10 minutos después del nacimiento, concentración que descendió al final del primer día permaneciendo constante a  $1$  ng/ml hasta el día 14 postnatal (Malinowska et al. 1972). En 1973 Mulay y colaboradores determinaron las concentraciones de corticosteroides en el feto de conejo reportando al nacimiento concentraciones de cortisol de  $6.9$  ng/ml y Cor de  $11.5$  ng/ml.

Los datos de la concentración de T arriba mencionados son procedentes de trabajos que tenían como objeto conocer la secreción de T en el proceso de diferenciación sexual. Para nosotros, la secreción T fue tomada como un indicador de competencia (ver objetivo 4), donde los gazapos que ganen mayor peso serán aquellos que presenten mayor cantidad de T. Con respecto a Cor, ésta es un indicador de estrés y se conoce muy poco como es modulada la respuesta en gazapos, por ello consideramos importante evaluarla, suponiendo que los gazapos pasan por un proceso de estrés antes del amamantamiento.

Por lo antes mencionado, el conejo representa un modelo adecuado para estudiar diferencias en las concentraciones hormonales entre los hermanos de la misma camada, posiblemente asociados con la jerarquía en peso como indicador de la competencia entre ellos por recursos maternos como la leche (Hudson et al. 2000), dada la escasa asistencia de la madre, en etapas tempranas de su desarrollo.

En este estudio es de particular interés evaluar las concentraciones plasmáticas de T y Cor como posibles indicadores de competencia y estrés respectivamente, entre gazapos de la misma camada durante el desarrollo temprano.

### **3. Hipótesis**

Durante la primera semana de vida postnatal los gazapos de la misma camada mostrarán una jerarquía (en peso) al nacimiento, la cual correlacionará con diferencias en las concentraciones de T y Cor.

#### **3.1 Predicciones**

- i) Habrá una correlación positiva entre peso al nacimiento, ingesta de leche, ganancia de peso y eficiencia de conversión de leche a biomasa entre gazapos de la misma camada.
  
- ii) Habrá una correlación positiva entre los parámetros del crecimiento postnatal con las concentraciones de T entre gazapos de la misma camada.
  
- iii) Habrá una correlación negativa entre los parámetros del crecimiento postnatal con las concentraciones de Cor entre gazapos de la misma camada.
  
- iv) No habrá diferencias entre los sexos en ninguna de las variables mencionadas anteriormente.

#### **4. Objetivo general**

Determinar si existe una correlación entre la jerarquía en peso (como indicador de competencia) y las concentraciones de T y Cor (como indicadores clásicos de dominancia y estrés) entre gazapos de la misma camada al final de la primera semana de vida postnatal.

##### **4.1 Objetivos específicos**

i) Determinar peso al nacimiento, ingesta de leche, ganancia de peso, conversión de leche a biomasa y sobrevivencia entre los gazapos de la misma camada durante la primera semana de vida postnatal.

ii) Cuantificar la concentración de T y Cor en suero por las técnicas de quimioluminiscencia y radioinmunoanálisis en gazapos de la misma camada al final de la primera semana de vida postnatal.

iii) Determinar el sexo de los gazapos e investigar si existen diferencias entre los sexos en los parámetros determinados en i) y ii).

iv) Correlacionar peso al nacimiento con peso final y con ingesta total de leche, ingesta total de leche con peso final, índice de conversión de leche a biomasa con peso final y concentraciones de T y Cor con peso final entre gazapos de la misma camada.

## 5. Metodología

### 5.1 Animales

Se trabajó con 10 camadas (71 gazapos sobrevivientes) de conejas de raza chinchilla. Las hembras gestantes tenían entre 4 y 9 meses de edad, con un peso aproximado entre 3.5 y 4.5 kg. Fueron mantenidas en jaulas de acero inoxidable de 90 x 60 x 40 (altura) cm, bajo un ciclo de luz-obscuridad de 16/8 hrs, (Hudson y Distel 1990), con una temperatura entre 18 y 24°C, alimentación con conejina (Purina®) y agua *ad libitum*. Pocos días antes del parto, en las jaulas maternas se colocaron cajas nido de acrílico de 40x35x15 (altura) cm con aserrín.

### 5.2 Diseño experimental

#### 5.2.1 Evaluación de jerarquía en peso

##### Día 0

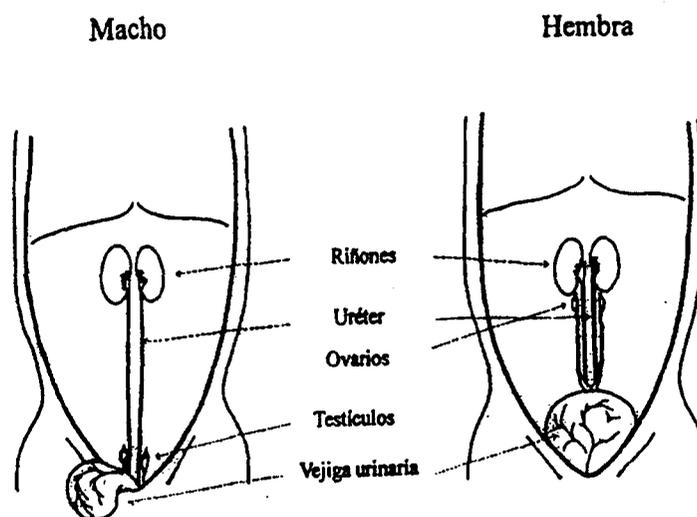
Después del parto las crías fueron marcadas con plumones de diferentes colores en las orejas para identificarlas, se determinó su peso y fueron dejadas con la madre las primeras 12 hrs para que fueran amamantadas. Posteriormente la caja nido con las crías se retiró de la jaula materna

##### Días 1 - 7

Antes del evento de amamantamiento, aproximadamente a las 10:00 AM a las crías se les estimuló la micción limpiándoles sus genitales con algodones fríos, inmediatamente fue remarcada su identificación, posteriormente cada cría fue pesada. Aproximadamente a las 11:00 AM, las crías fueron colocadas en la jaula materna para que la hembra madre las alimentara, transcurrido el período de amamantamiento entre 3 y 5 min, las crías fueron retiradas de la jaula materna, pesadas nuevamente y regresadas a su caja nido, la cual permaneció en el laboratorio.

Día 8

A las 10:00 AM a las crías se les determinó su peso final. Aproximadamente entre las 10:30 y 11:30 AM, se sacrificaron por decapitación para la obtención de las muestras de suero. El sexado de las crías se realizó abriendo la cavidad abdominal hasta visualizar los ovarios situados cerca de los riñones más abajo los testículos, según el sexo de la cría (Fig. 2).



**Figura 2.** Determinación del sexo en gazapos a través de la relación entre las gónadas y el tracto urinario

### 5.2.2 Evaluación de crecimiento

Para evaluar el crecimiento de cada cría se usaron los siguientes parámetros:

i) Peso al nacimiento. Después del parto (día 0) las crías fueron identificadas e inmediatamente se determinó su peso, pesando cada cría en una balanza electrónica OHAUS -TS600S y de resolución de 0.1 g.

ii) Ingesta total de leche. El peso de la leche ingerida por cada cría durante cada amamantamiento se calculó mediante la diferencia entre el peso tomado antes y después del amamantamiento, la ingesta total se obtuvo de sumar todas las cantidades de leche ingerida de cada día.

iii) Índice de eficiencia de conversión de la leche a biomasa (IC). El IC = incremento en peso antes del amamantamiento durante t + 1 días / peso de leche ingerida durante t días (Drummond et al. 2000).

iv) Peso final. Se tomó como peso final para cada cría el peso registrado el último día del experimento (día 8 antes de la decapitación).

### 5.2.3 Cuantificación de T y Cor

La determinación en suero de la concentración de T y Cor se realizó por dos métodos: quimioluminiscencia para T y radioinmunoanálisis (RIA) para Cor.

La obtención de la sangre se realizó por decapitación de los animales en una guillotina, la sangre fue colectada en tubos de ensayo sin anticoagulante, posteriormente se separó el suero por centrifugación a 2500 rpm durante 30 min. Inmediatamente el suero fue separado del paquete celular, obteniéndose entre 0.5 y 1 ml de suero por cría, todos los sueros fueron congelados en tubos Eppendorf en un congelador Revco a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta obtener una cantidad de 40 muestras para realizar el ensayo (aprox. entre 3 y 5 meses).

i) Quimioluminiscencia para T: la determinación de T se realizó por un análisis inmunométrico quimioluminiscente competitivo, marcado con ligando, en fase sólida. La fase sólida consiste de una esfera de poliestireno recubierta con un anticuerpo policlonal de conejo específico para T encerrada dentro de la unidad

de reacción del analizador automático IMMULITE. Se empleó un kit LKTT1 para 100 pruebas, con código de color verde oscuro y un código del ensayo TES de Diagnostic Products Corporation (EUA). La sensibilidad del ensayo fue de 0.1 a 16 ng/ml. Para realizar la determinación de T el equipo solo requiere de 20  $\mu$ l de suero.

Los sueros fueron descongelados a temperatura ambiente y fueron homogenizados en un vórtex, enseguida se virtió cada muestra de suero con una propipeta en su respectiva celda del carrusel. Una vez colocadas todas las muestras en las celdas, junto con la T marcada se introdujeron simultáneamente en la unidad de reacción del immulite, incubándose durante 30 min a 37°C y con agitación intermitente. Durante ese tiempo la T presente en la muestra compite con la T marcada con ligando por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo en la fase sólida. El material no ligado es eliminado por lavado y centrifugación. Se introduce un antiligando marcado con fosfatasa alcalina y la unidad de reacción es incubada durante otros 30 min. El conjugado no ligado es eliminado por centrifugación. Se añade entonces el sustrato y la unidad de reacción se incuba durante otros 10 min más. El sustrato quimioluminiscente es un éster fosfato de adamantil dioxetano, sufre hidrólisis en presencia de la fosfatasa alcalina generando un producto inestable intermedio, que da como resultado la emisión de luz correspondiente al complejo-ligado y por consiguiente la liberación de fotones, que son medidos por el luminómetro del equipo, que es inversamente proporcional a la concentración de T.

El sistema IMMULITE realiza automáticamente la adición de la muestra y reactivo, las incubaciones y los pasos de separación, así como la medida de la liberación de fotones por medio del luminómetro a temperatura controlada. El equipo calcula los resultados para controles y muestras a partir de la señal observada, utilizando una curva patrón almacenada. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado

ii) RIA para Cor: el RIA es un método de cuantificación por competencia o saturación, donde la unión antígeno-anticuerpo es muy específica y de una gran sensibilidad.

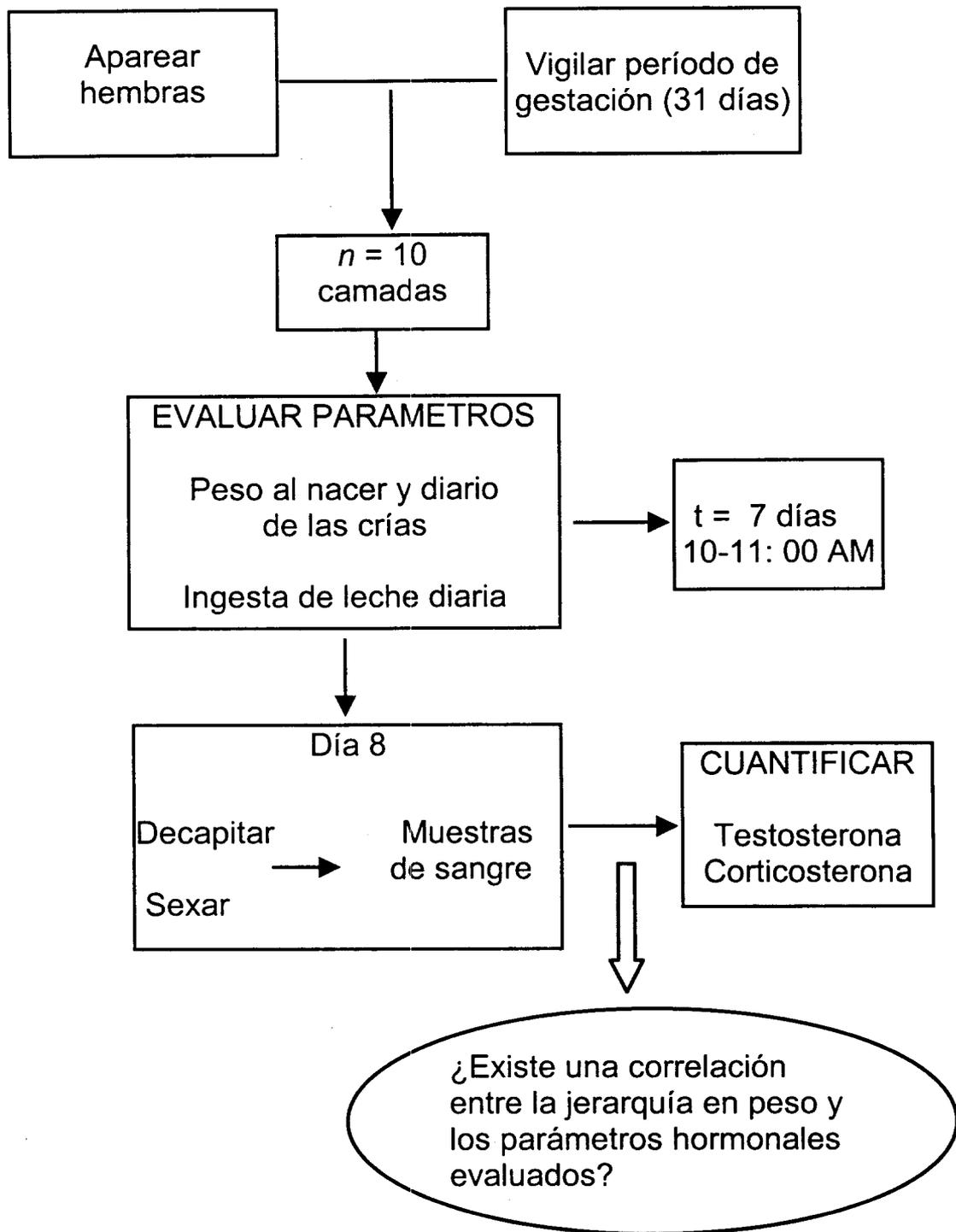
La determinación de Cor es un ensayo en fase sólida en el cual la Cor marcada radioactivamente con  $I^{125}$  compite por sitios de unión al anticuerpo con la Cor de la muestra. El anticuerpo está inmovilizado en la pared del tubo de propileno y la separación del reactivo unido se hace por decantación del sobrenadante. Finalmente la lectura de los tubos se realiza en un contador gamma, donde se obtiene un valor numérico el cual mediante una curva de calibración proporciona la cantidad de Cor en la muestra. Se emplearon dos kits TKRC1 comercial con 100 tubos para analizar 80 muestras de suero por duplicado, de Diagnostic Products Corporation (EUA), con 4.5 microcuries o 167 kilobecquerel de radioactividad en Cor marcada con  $I^{125}$ . El kit estaba equipado con sueros calibradores (estándares) que tienen concentraciones conocidas de Cor entre 20 y 2000 ng/ml. La sensibilidad del ensayo fue de 5.7 ng/ml. Para realizar el ensayo los sueros fueron descongelados a temperatura ambiente y se agitaron en un vórtex antes de tomar las alícuotas. Se etiquetaron tubos sin anticuerpo para cuentas totales (CT) y para las uniones no específicas al anticuerpo (UNE). También fueron etiquetados los tubos con el anticuerpo para los sueros calibradores y las 71 muestras de suero de los gazapos. Se agregaron 50  $\mu$ l del zero calibrador A en UNE, inmediatamente se adicionaron 50  $\mu$ l de los estándares control y de las muestras respectivamente. Por último se agregó 1 ml de la Cor marcada con  $I^{125}$  a todos los tubos y se agitaron en un vórtex.

Todos los tubos fueron incubados a 37°C por 2 hrs. Posteriormente los tubos fueron decantados vigorosamente por inversión excepto los tubos para CT, se dejaron secar hasta el otro día (las boquillas de los tubos fueron secadas con papel absorbente) y fueron leídos en un contador gamma. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Toda la secuencia metodológica se muestra en la Figura 3.

### 5.3 Análisis estadístico

El análisis de los parámetros de crecimiento y hormonales se realizó con pruebas de significancia paramétrica. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para correlacionar la mayoría de los parámetros, sólo se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para correlacionar los rangos entre peso inicial y peso final dentro de las camadas debido a que estos fueron valores no paramétricos. Las diferencias en los parámetros finales en peso final, ingesta total de leche, índice de conversión de la leche a biomasa y las hormonas entre los sexos se analizaron por pruebas de *t*-Student para muestras independientes. Todas las pruebas fueron de dos colas con un nivel de significancia de 0.05 y fueron hechas en el programa SPSS versión 8.0 (Statistical Package for the Social Sciences).



**Figura 3.** Secuencia metodológica de tratamiento en los gazapos del estudio.

## 6. Resultados

### 6.1 Características de las camadas

Las principales características de las 10 camadas al nacimiento y durante la primera semana de vida postnatal son resumidas en las Tablas 5-8.

#### 6.1.1 Número, sexo y peso de los gazapos al nacimiento

De las 10 camadas nacieron en total 82 gazapos con un peso promedio de 53.9 g ( $DE = 8.82$ ). En las 71 crías sobrevivientes no se observaron diferencias entre los sexos, el peso promedio en los machos fue de 55.6 g ( $DE = 10.6$ ;  $n = 38$ ) y en las hembras de 50.39 g ( $DE = 10.89$ ;  $n = 33$ ). En la Tabla 5 se puede observar que el peso al nacimiento varía marcadamente entre los gazapos de cada camada, así que las diferencias en peso entre el gazapo más pesado y el más ligero en las camadas varió entre 34.1 g (43%, camada 7) y 8.4 g (13.9%, camada 8).

#### 6.1.2 Mortalidad

De las 82 crías vivas al nacer murieron 11 (13.4%) durante la primera semana, machos y hembras murieron en proporciones similares, 5 y 6 respectivamente (Tabla 6). La muerte de los gazapos fue asociada con un bajo peso al nacimiento y los gazapos muertos pesaron menos que al nacimiento (Tabla 6).

**TABLA 5. CARACTERISTICAS DE LAS CAMADAS AL NACIMIENTO**  
**Ordenadas conforme al número de crías en la camada**

<b>Camada</b>	<b>Gazapos Machos/Hembras</b>	<b>Peso/cría al nacer (g) X (DE)</b>	<b>Diferencia absoluta en peso (g) (GP - GL %*)</b>
1	6/5 = 11	47.2 (7.7)	20.7 (35.8)
2	7/3 = 10	50.6 (8.9)	27.9 (44.4)
3	3/7 = 10	36.9 (4.2)	13.7 (24.4)
4	2/8 = 10	59.1 (11.9)	27.8 (42.9)
5	7/1 = 8	65.3 (11.1)	25.8 (36.4)
6	4/4 = 8	54.3 (2.8)	9 (15.2)
7	4/3 = 7	56.6 (3.4)	34.1 (42.9)
8	5/2 = 7	54.3 (8.2)	8.4 (13.9)
9	3/3 = 6	67.1 (5.2)	12.8 (17.8)
10	2/3 = 5	48.4 (5.2)	14.7 (25.5)
<b>Total</b>	<b>82</b>		
<b>X° (DE)</b>	<b>53.9 (8.82)</b>	<b>19.4 (9.0)</b>	

**\*GP= Gazapo más pesado, GL= Gazapo más ligero; X° = Promedio de los promedios.**

**TABLA 6. CARACTERISTICAS DE LOS GAZAPOS MUERTOS DURANTE LA PRIMERA SEMANA POSTNATAL**

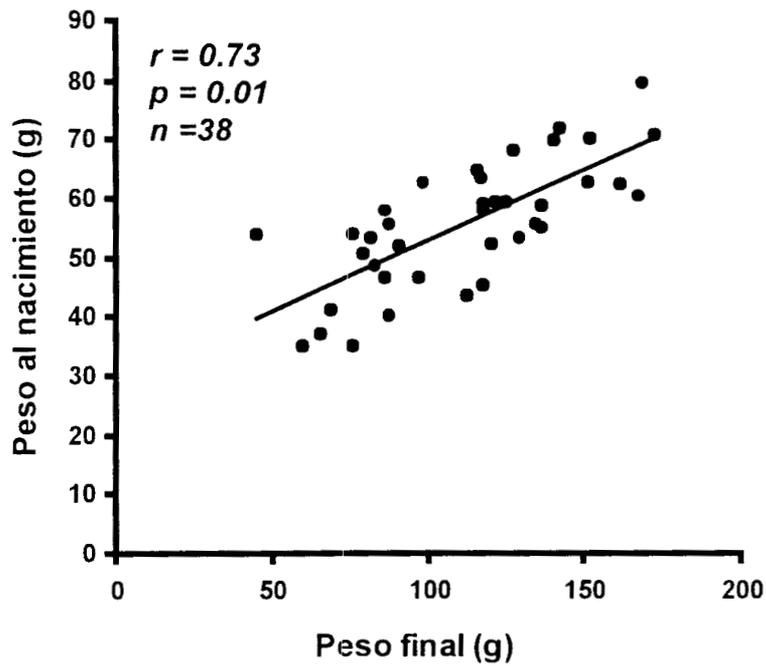
Camada	Machos/ Hembras	MACHOS			HEMBRAS		
		Peso al nacimiento (g)	Peso al morir (g)	Peso al nacimiento (g)	Peso al morir (g)	Peso al morir (g)	Día
1	1/0	44.1	39.2				5
2	0/1			39.1	33.0		5
3	1/1	34.5	27.8	30.8	24.0		3,3
4	1/3	52.2	43.2				7
				37.0	31.9		4
				39.1	31.7		7
				41.4	31.2		7
6	1/0	51.6	45.3				4
9	1/0	71.5	70.5				1
10	0/1			41.3	40.2		1
Total	5/6						
$\bar{X}^{\circ}$		50.6	44.6	38.1	32.0		
(DE)		(13.7)	(16.5)	(3.9)	(3.6)		

Las camadas 5, 7 y 8 no presentaron ningún deceso.  $\bar{X}^{\circ}$  = promedio de los promedios.

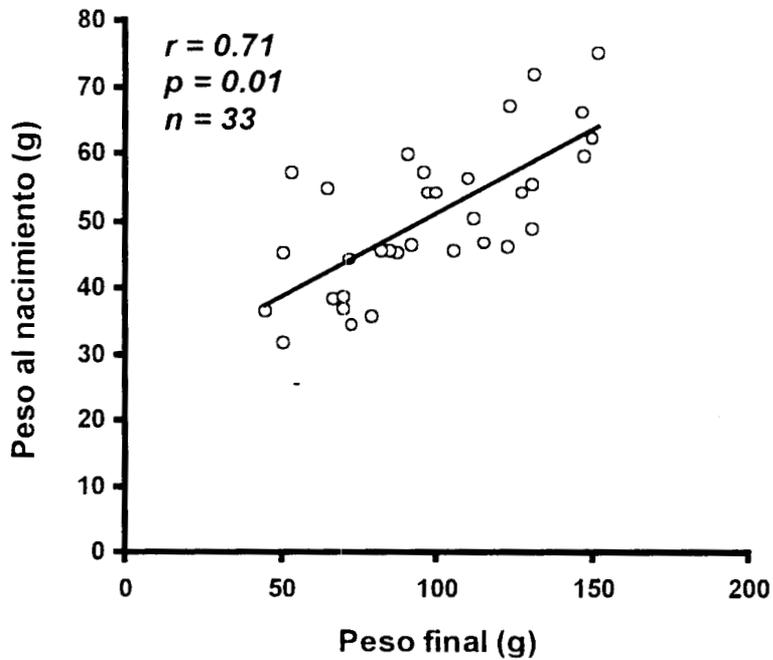
### 6.1.3 Crecimiento

Los machos y las hembras sobrevivientes al final de la primera semana mostraron correlaciones positivas entre peso al nacimiento y final (Figs.4 y 5; Pearson,  $r = 0.73$ ,  $p = 0.01$  y  $r = 0.71$ ,  $p = 0.01$ , respectivamente), peso al nacimiento con ingesta total de leche (Figs. 6 y 7;  $r = 0.59$ ,  $p = 0.01$  y  $r = 0.49$ ,  $p = 0.01$ , respectivamente), ingesta total de leche con peso final (Figs. 8 y 9;  $r = 0.88$ ,  $p = 0.01$  y  $r = 0.91$ ,  $p = 0.01$ , respectivamente) y peso final con índice de conversión de la leche a biomasa (Figs. 10 y 11;  $r = 0.58$ ,  $p = 0.01$  y  $r = 0.68$ ,  $p = 0.01$ , respectivamente).

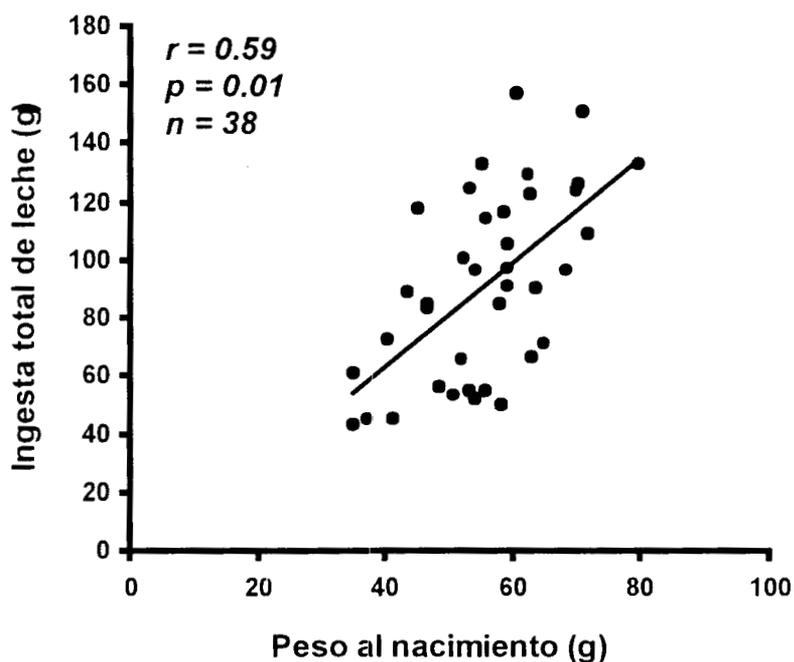
Los gazapos sobrevivientes consumieron hasta el día 7 un promedio total de leche de 87.6 g ( $DE = 29.1$ ). En la Tabla 7 se puede observar que las crías de las camadas más grandes presentan promedios bajos en la ingesta total de leche con respecto a las camadas pequeñas, también se aprecia que las camadas grandes muestran porcentajes altos en la diferencia absoluta en peso entre la cría más pesada y la cría más ligera, se observaron diferencias sistemáticas en relación al tamaño de camada y el índice de conversión de la leche a biomasa, es decir en la mayoría de las camadas pequeñas el índice de conversión de la leche a biomasa fue mayor que en las camadas grandes. Respecto al peso final de las crías éste fue más alto en las camadas pequeñas. No se observaron diferencias marcadas en ninguno de los parámetros finales entre machos y hembras; peso final ( $\bar{X} = 111.8$ ,  $DE = 32.8$ ,  $\bar{X} = 98.2$ ,  $DE = 31.5$  g prueba de  $t$ -Students,  $t = 1.7$ ,  $p = 0.07$ ), ingesta total de leche ( $\bar{X} = 91.5$ ,  $DE = 32$ ,  $\bar{X} = 78.3$ ,  $DE = 32.3$  g;  $t = 1.68$ ,  $p = 0.09$ ) e índice de conversión de la leche a biomasa ( $\bar{X} = 0.6$ ,  $DE = 0.07$ ,  $\bar{X} = 0.6$ ,  $DE = 0.14$  g;  $t = 1.63$ ,  $p = 0.10$ ) respectivamente.



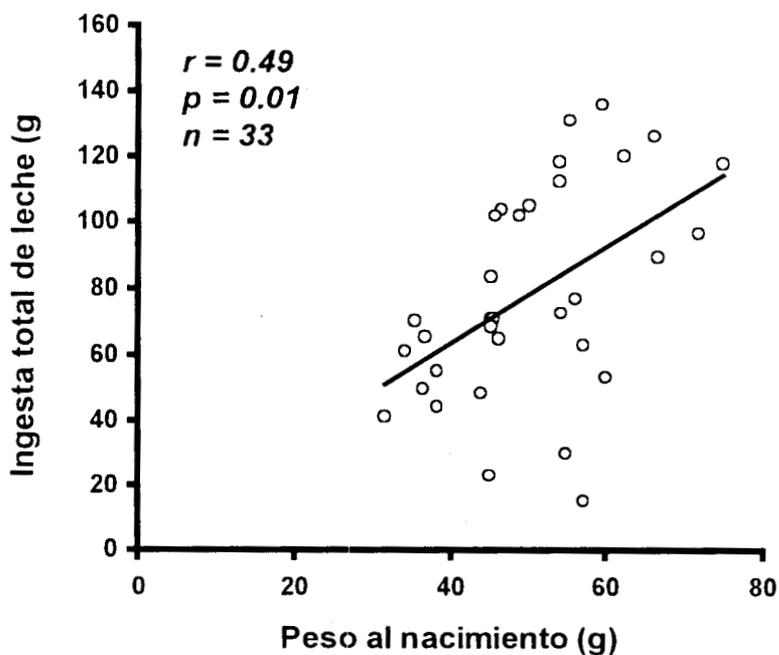
**Figura 4.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre peso al nacimiento con peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



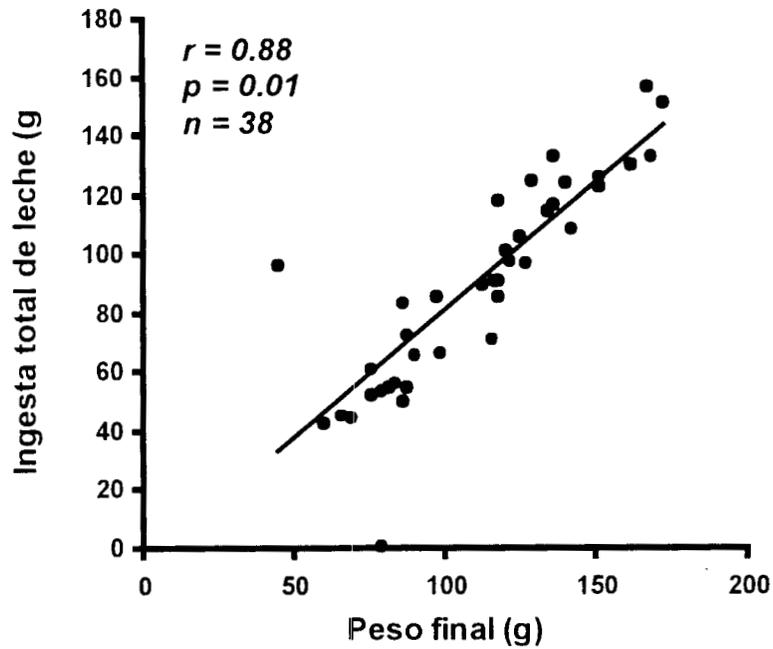
**Figura 5.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre peso al nacimiento con peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



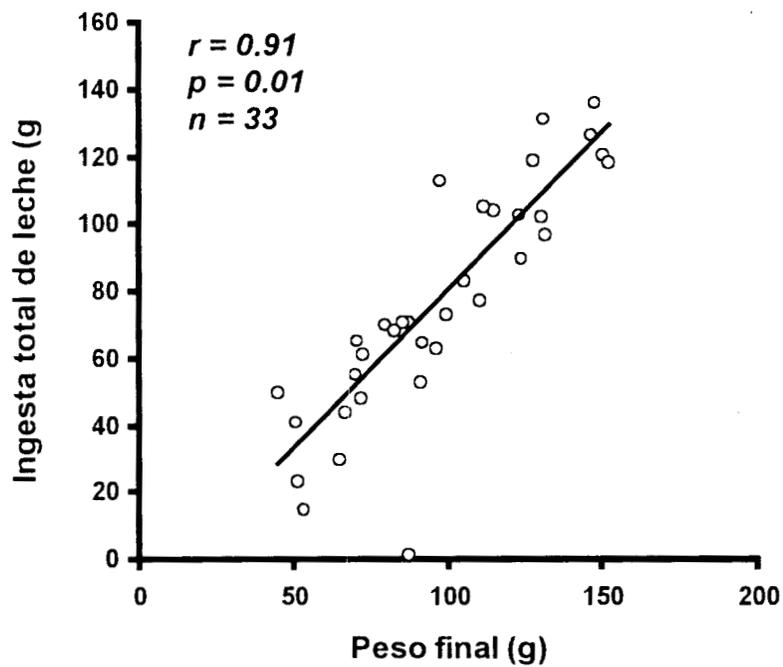
**Figura 6.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre ingesta total de leche con peso al nacimiento al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



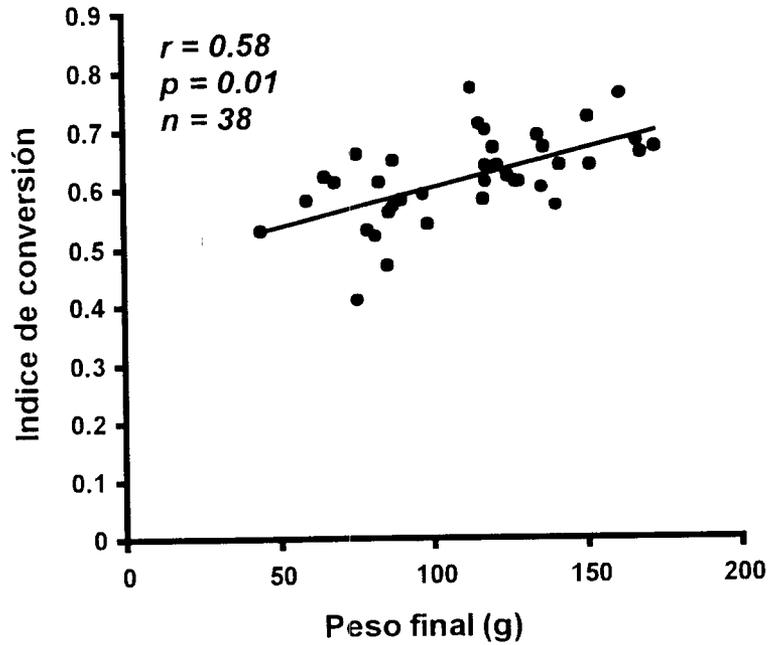
**Figura 7.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre ingesta total de leche con peso al nacimiento al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



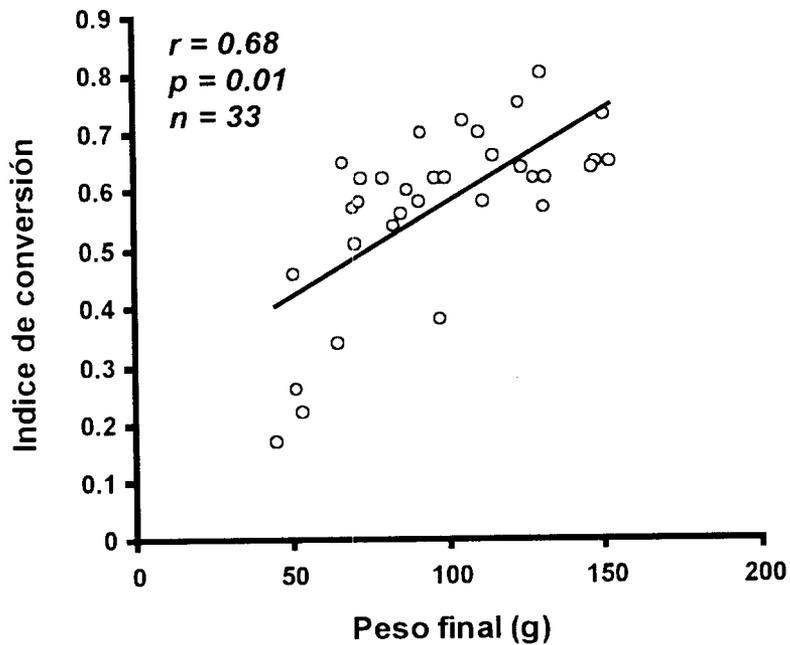
**Figura 8** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre ingesta total de leche con peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 9** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre ingesta total de leche con peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 10.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre índice de conversión con peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 11.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre índice de conversión con peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.

**TABLA 7. CRECIMIENTO DE LOS GAZAPOS SOBREVIVIENTES DURANTE LA PRIMERA SEMANA POSTNATAL**

Camada	Gazapos sobrevivientes	Ingesta total de leche (g) $\bar{X}$ (DE)	Aumento de peso total (g) $\bar{X}$ (DE)	Índice de conversión $\bar{X}$ (DE)	Peso final (g) $\bar{X}$ (DE)	Diferencia absoluta en peso (g) (GP - GL *% día 8)
1	10	63.3 (15.1)	55.6 (6.9)	0.61 (0.1)	86.3 (17.4)	52.2 = (44.3)
2	9	55.6 (9.4)	61.8 (5.5)	0.55 (0.1)	81.7 (12.3)	38.9 = (39.3)
3	8	61.7 (10.8)	54.2 (0.1)	0.52 (0.1)	70.6 (15.0)	42.6 = (48.6)
4	6	40.0 (21.0)	76.8 (19.2)	0.41 (0.3)	74.8 (24.7)	64.5 = (55.8)
5	8	107.9 (21.6)	46.5 (6.0)	0.61 (0.0)	116.4 (36.5)	128.4 = (74.4)
6	7	115.1 (12.8)	45.1 (5.0)	0.57 (0.1)	121.4 (13.1)	9.0 = (15.2)
7	7	118.8 (16.6)	43.3 (3.8)	0.69 (0.1)	148.7 (45.4)	34.1 = (42.9)
8	7	109.8 (33.1)	45.8 (0.1)	0.62 (0.0)	127.5 (26.5)	8.4 = (13.9)
9	5	102.2 (15.4)	50.8 (3.8)	0.63 (0.0)	132.4 (12.2)	12.8 = (17.8)
10	4	101.9 (10.3)	38.6 (1.9)	0.75 (0.5)	125.3 (9.5)	14.1 = (25.5)
Total	71	87.6 (29.1)	51.9 (11.1)	0.6 (0.1)	111.5 (27.5)	40.5 (36.5)

\*GP= Gazapo más pesado, GL= Gazapo más ligero;  $\bar{X}^{\circ}$  = Promedio de los promedios.

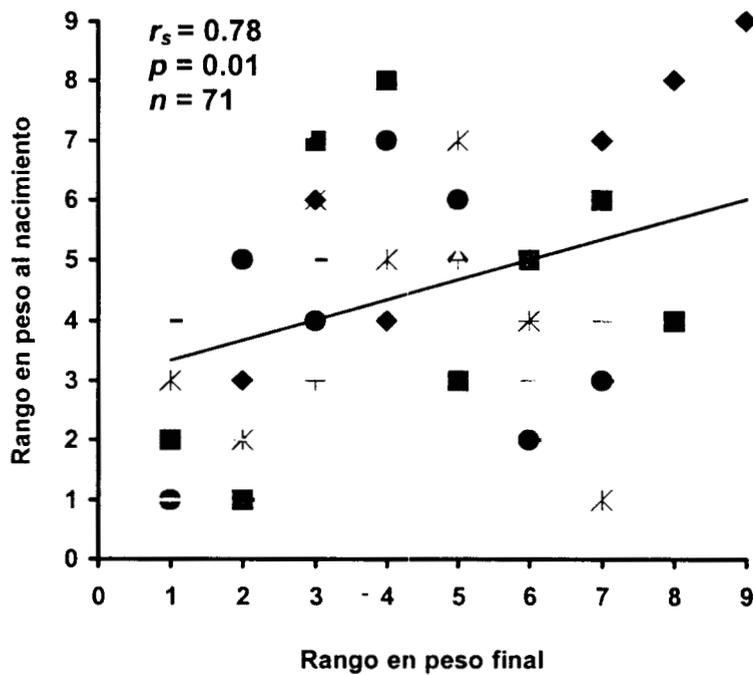
**TABLA 8. ESTABILIDAD DE LA JERARQUIA EN PESO: IDENTIDAD DE LAS CRÍAS MAS PESADAS Y MAS LIGERAS DE CADA CAMADA EN EL DIA 1 Y 8.**

Camada	DIA 1		DIA 8	
	Cría más pesada (g) (Número y sexo)	Cría más ligera (g)	Cría más pesada (g)	Cría más ligera (g)
1	56.0 (11♂)	35.6 (4♂)	117.9 (11♂)	65.7 (4♂)
2	60.0 (8♂)	33.3 (9♂)	98.6 (8♂)	59.8 (9♂)
3	42.5 (5♀)	29.0 (7♀)	87.7 (3♂)	45.1 (8♀)
4	62.3 (8♂)	42.0 (7♀)	115.8 (8♂)	51.3 (6♀)
5	69.1 (6♂)	46.6 (1♂)	172.5 (6♂)	44.7 (4♂)
6	57.6 (6♂)	48.9 (5♀)	136.2 (2♂)	97.4 (3♀)
7	93.3 (7♂)	52.6 (1♀)	168.2 (7♂)	105.6 (1♀)
8	58.6 (2♂)	50.2 (4♂)	166.9 (2♂)	90.5 (4♂)
9	69.0 (2♂)	57.4 (4♂)	146.8 (3♀)	117.5 (4♂)
10	63.5 (5♂)	48.0 (4♂)	134.3 (5♂)	112.8 (4♂)
Total				
X°	63.2	44.4	134.5	79.0
(DE)	(13.0)	(9.1)	(29.6)	(28.8)

Las cifras negras indican a las crías más pesadas o más ligeras de cada camada al principio y final del experimento. Los números de las crías fueron asignados al azar al nacimiento. X° = promedio de los promedios.

## 6.2 Jerarquía en peso entre los gazapos de cada camada

La jerarquía en peso dentro de cada camada fue muy estable. En cinco de las camadas (1, 2, 7, 8 y 10) los gazapos que nacieron con el peso más alto fueron los más pesados al final del experimento, mientras que los gazapos más ligeros al nacer fueron los más ligeros al final (Tabla 8). En tres camadas (4, 5, y 9; Tabla 8) no hubo cambios en una de las posiciones extremas. En la Figura 12 se observa una clara correlación positiva entre los rangos en peso al nacimiento y final dentro de las camadas, aunque hubo algunos cambios en la jerarquía en peso con la que nacen los gazapos.



**Figura 12.** Correlación positiva (prueba de Spearman) entre los rangos en peso al nacimiento con el peso al final del experimento en los gazapos sobrevivientes. Cada punto representa un gazapo y los símbolos iguales representan crías de la misma camada. 1 = rango más alto; 9 = rango más bajo.

## 6.3 Concentración de testosterona

### 6.3.1 En relación al sexo

Los gazapos de ambos sexos producen T al día 8 postnatal, los 38 machos produjeron en promedio 1.05 ng/ml ( $DE = 0.9$ ) y las 33 hembras 1.0 ng/ml ( $DE = 0.9$ ). No se observaron diferencias significativas entre los sexos (prueba de  $t$ -Student,  $t = 0.89$ ,  $p = 0.37$ ). En la Tabla 9 se puede ver que la secreción de T entre los machos y las hembras no varía. En cuatro de las camadas (4, 6, 8 y 10), las hembras mostraron concentraciones de T más altas que los machos de su misma camada.

### 6.3.2 En relación al peso final

Los gazapos macho mostraron una correlación positiva no significativa entre T y peso final (Fig. 13; Pearson,  $r = 0.26$ ,  $p = 0.10$ ). Mientras que en las hembras se observó una correlación positiva significativa (Fig. 14; Pearson,  $r = 0.45$ ,  $p = 0.01$ ).

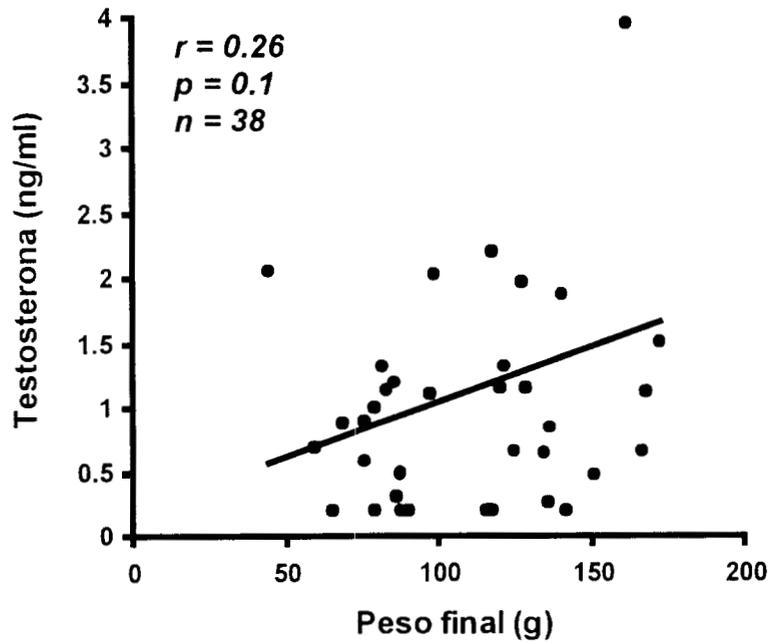
### 6.3.3 En relación al rango en peso dentro de la camada

Ni los machos ni las hembras presentaron una correlación significativa entre T y rango en peso final dentro de la camada (Figs.15 y 16; Spearman,  $r_s = 0.20$ ,  $p = 0.22$  y  $r_s = -0.14$ ,  $p = 0.42$ , respectivamente). No se observaron diferencias significativas entre los dos gazapos más pesados y los dos más ligeros de cada camada (prueba de  $t$ -Student,  $t = 0.74$ ,  $p = 0.45$ ).

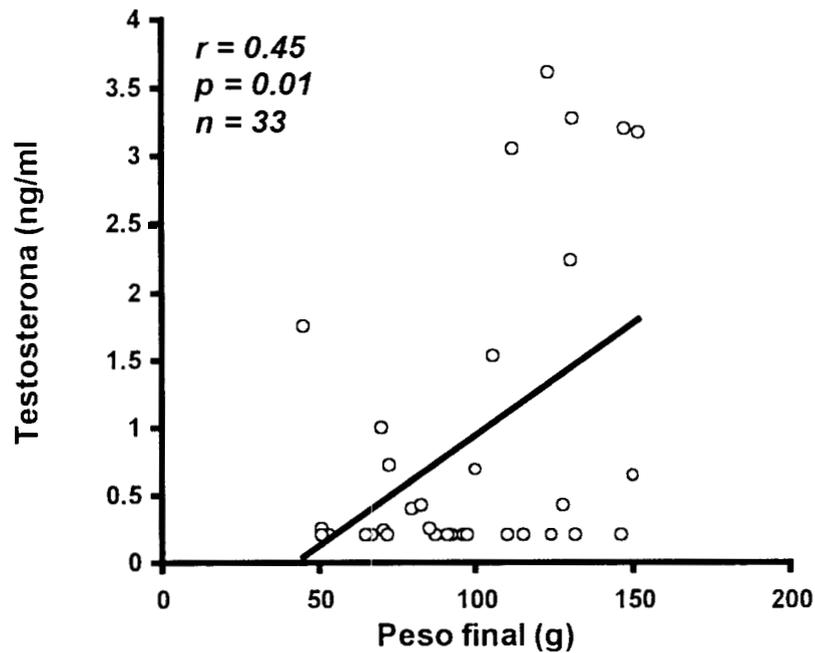
**TABLA 9. CONCENTRACIONES DE TESTOSTERONA (T) EN GAZAPOS EN EL DIA 8 POSTNATAL**

Camada	Machos	Concentración de T (ng/ml) $\bar{X}$ (DE)	Hembras	Concentración de T (ng/ml) $\bar{X}$ (DE)
1	5	0.4 (0.4)	5	0.36 (0.3)
2	7	1.04 (0.5)	2	0.23 (0.0)
3	2	0.54 (0.0)	6	0.46 (0.2)
4	1	0.2 (0.0)	5	0.5 (0.0)
5	7	1.56 (0.7)	1	0.2 (0.0)
6	3	0.70 (0.4)	4	1.74 (1.6)
7	4	2.60 (2.1)	3	1.78 (1.2)
8	5	0.84 (0.4)	2	1.94 (1.8)
9	2	0.2 (0.0)	3	0.2 (0.0)
10	2	2.44 (2.5)	2	2.46 (1.6)
Total	38		33	
$\bar{X}^{\circ}$		1.05		1.0
(DE)		0.9		0.9

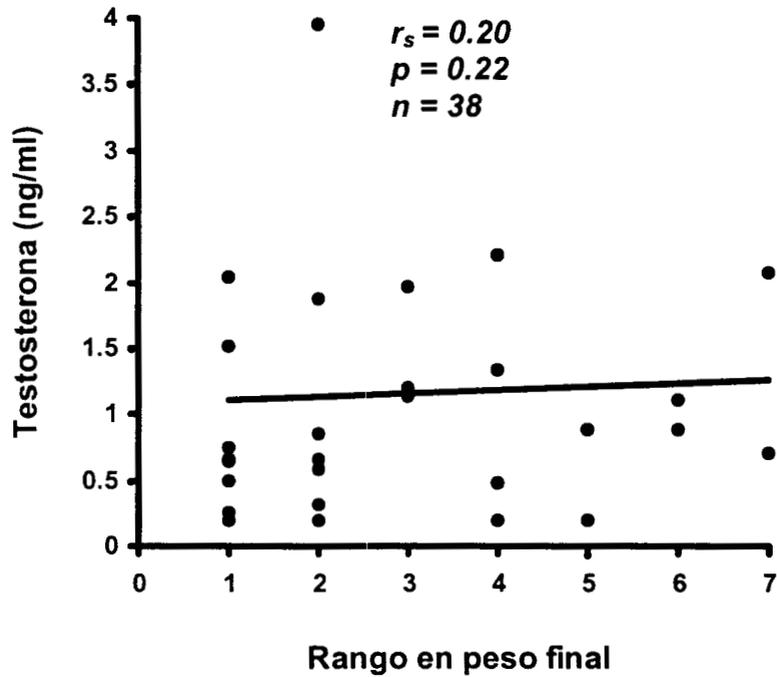
$\bar{X}^{\circ}$  = Promedio de los promedios.



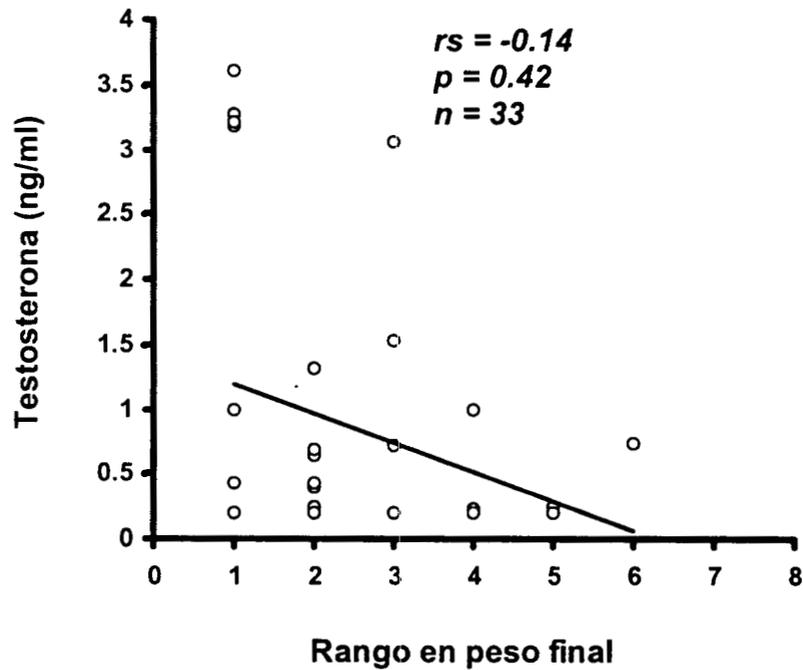
**Figura 13.** Ausencia de correlación positiva (prueba de Pearson) entre testosterona con peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 14.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre testosterona con peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 15.** Ausencia de una correlación significativa (prueba de Spearman) entre testosterona con rango en peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes; 1 = rango más alto, 8 = rango más bajo. Cada punto representa una cría.



**Figura 16.** Ausencia de una correlación significativa (prueba de Spearman) entre testosterona con rango en peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes; 1 = rango más alto, 8 = rango más bajo. Cada punto representa una cría.

## 6.4 Concentración de corticosterona

### 6.4.1 En relación al sexo

Los gazapos de ambos sexos producen Cor al día 8 postnatal, los machos secretaron en promedio 25.7 ng/ml ( $DE = 6.8$ ) y las hembras 23.9 ng/ml ( $DE = 7.9$ ), no se observaron diferencias significativas entre los sexos (prueba de *t*-Student,  $t = 0.79$ ,  $p = 0.43$ ). En la Tabla 10 se observa que en la mitad de las camadas (1, 4, 5, 7 y 10) las hembras presentaron concentraciones de Cor más bajas que los machos.

### 6.4.2 En relación al peso final

Los gazapos macho y hembra mostraron correlaciones positivas significativas entre Cor y peso final (Fig. 17; Pearson,  $r = 0.34$ ,  $p = 0.05$  y Fig. 18; pearson,  $r = 0.32$ ,  $p = 0.05$ , respectivamente).

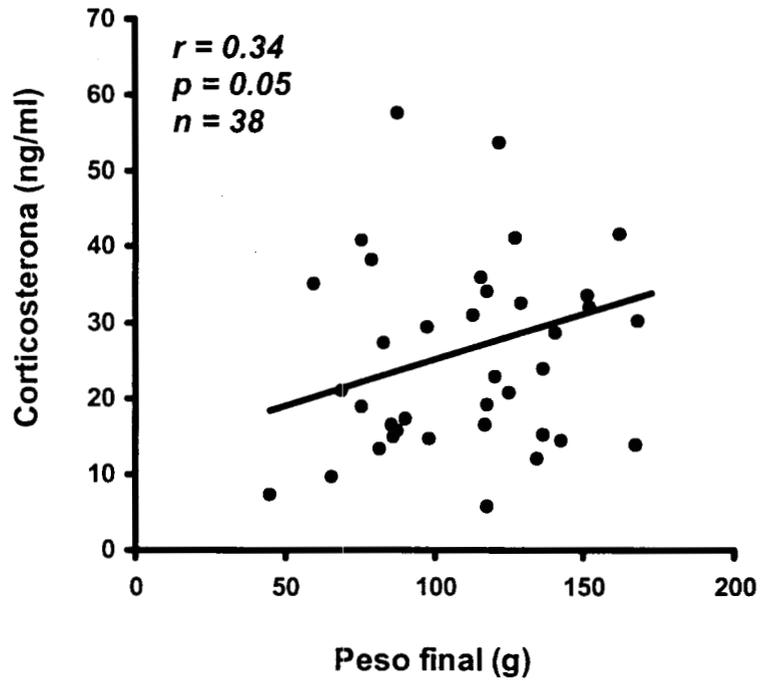
### 6.4.3 En relación al rango en peso dentro de la camada

Ni los machos ni las hembras presentaron una correlación significativa entre Cor y rango en peso final dentro de la camada (Figs. 19 y 20; Spearman,  $r_s = 0.16$ ,  $p = 0.33$  y  $r_s = -0.16$ ,  $p = 0.36$ , respectivamente). Tampoco se observaron diferencias significativas entre los dos gazapos más pesados y los dos más ligeros de cada camada (prueba de *t*-Student,  $t = 0.95$ ,  $p = 0.34$ ).

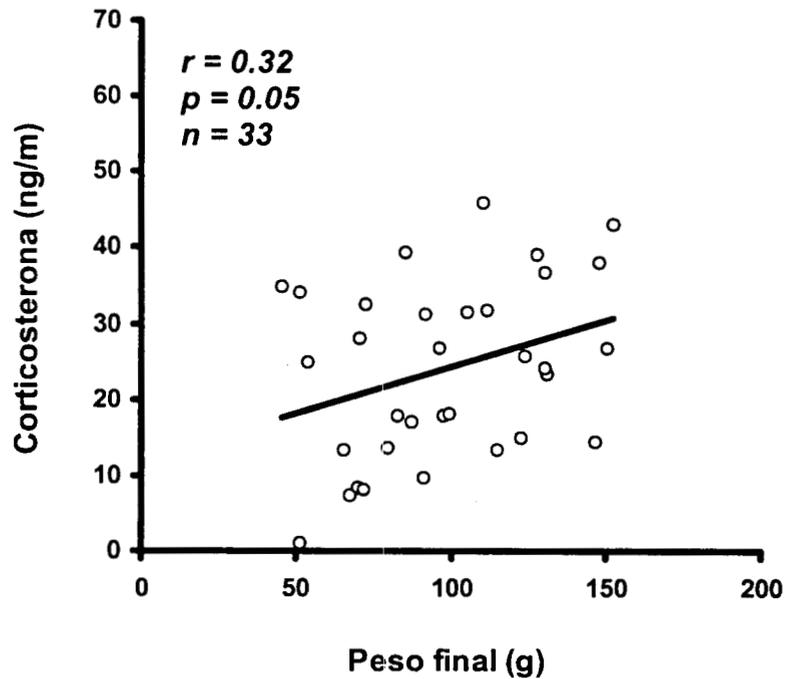
**TABLA 10. CONCENTRACIONES DE CORTICOSTERONA (COR) EN GAZAPOS EN EL DIA 8 POSTNATAL**

Camada	Machos	Concentración de Cor (ng/ml) $\bar{X}$ (DE)	Hembras	Concentración de Cor (ng/ml) $\bar{X}$ (DE)
1	5	25.56 (21.9)	5	22.04 (16.4)
2	7	23.86 (10.9)	2	32.99 (8.9)
3	2	17.31 (2.2)	6	24.44 (11.6)
4	1	35.80 (0.0)	5	11.40 (8.8)
5	7	32.55 (20.2)	1	13.28 (0.0)
6	3	22.39 (1.6)	4	31.33 (9.5)
7	4	34.32 (5.0)	3	33.70 (8.4)
8	5	26.55 (17.0)	2	28.11(14.0)
9	2	16.72 (3.4)	3	21.19 (6.0)
10	2	21.50 (13.3)	2	19.60 (6.5)
Total	38		33	
$\bar{X}^{\circ}$		25.7		23.9
(DE)		6.8		7.9

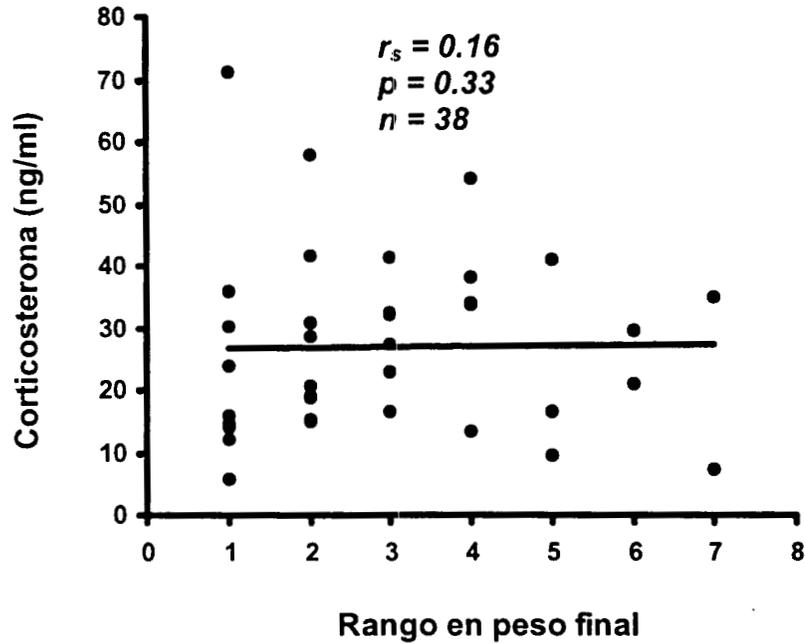
$\bar{X}^{\circ}$  = Promedio de los promedios.



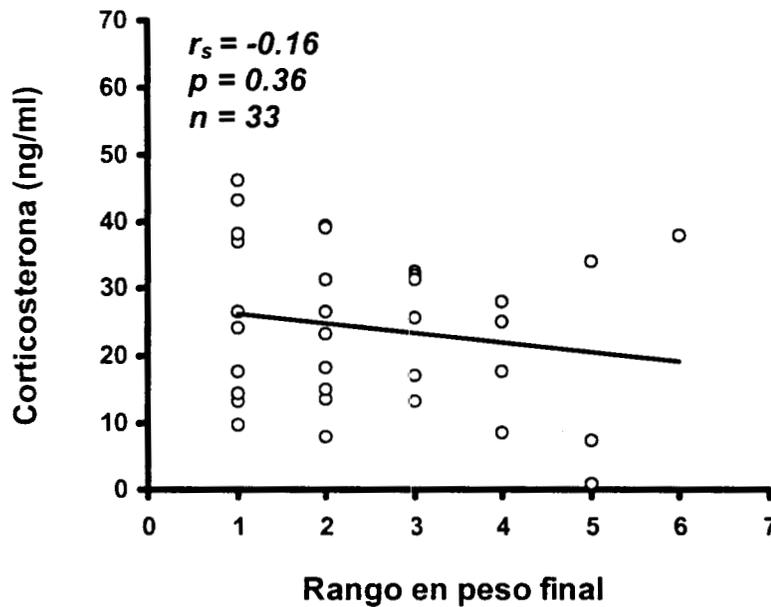
**Figura 17.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre corticosterona con peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 18.** Correlación positiva (prueba de Pearson) entre corticosterona con peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes. Cada punto representa una cría.



**Figura 19.** Ausencia de una correlación significativa (prueba de Spearman) entre corticosterona con rango en peso al final del experimento de los gazapos macho sobrevivientes; 1 = rango más alto, 8 = rango más bajo. Cada punto representa una cría.



**Figura 20.** Ausencia de una correlación significativa (prueba de Spearman) entre corticosterona con rango en peso al final del experimento de los gazapos hembra sobrevivientes; 1 = rango más alto, 8 = rango más bajo. Cada punto representa una cría.

## 7. Discusión

En este estudio se analizó la existencia de una relación entre la jerarquía en peso y las concentraciones de T como indicador de competencia y Cor como indicador de estrés entre gazapos de la misma camada al final de la primera semana postnatal. Los resultados confirman hallazgos previos acerca de la competencia por la leche y la estrecha relación entre la ingesta de leche y el crecimiento en peso de los gazapos, mostrando que en las camadas grandes los gazapos ingieren menos leche, presentan bajo peso al final de la primera semana y una alta mortalidad (Tablas 5 y 7). Además estos resultados mostraron que hay correlaciones positivas entre el peso al nacimiento, la ingesta de leche, el índice de conversión de la leche a biomasa y el peso final así como la existencia de una jerarquía en peso relativamente estable entre hermanos, por lo que los resultados son congruentes con los descritos previamente en el trabajo de Drummond et al (2000) e indican que son fenómenos reproducibles y por consiguiente son una base sólida para investigaciones futuras.

Los parámetros mencionados anteriormente no presentaron diferencias entre los sexos. Además, los resultados confirmaron que los gazapos de ambos sexos producen concentraciones detectables de T y Cor; por lo que se asume que ambos ejes (HPG y HPA) están activos en la primera semana postnatal.

Sin embargo, las concentraciones de T (1.05 y 0.99 ng/ml en machos y hembras respectivamente) estuvieron ligeramente por arriba de los valores reportados en la literatura. Para los machos, en la Tabla 9 se puede observar que 3 camadas (5, 7 y 10) presentaron concentraciones superiores a 1.5 ng/ml, lo cual influyó para incrementar el promedio final de la concentración de T. Las 7 camadas restantes mostraron concentraciones de T acorde a lo reportado por Veysiere et al (1975) quienes reportaron 0.38 y 0.046 ng/ml al nacimiento en machos y hembras, respectivamente, posteriormente Berger et al (1976) publicó valores en los machos de 0.38, 0.21, 0.46 y 4.01 ng/ml al nacimiento, a los 10, 40 y 60 días, respectivamente. En 1979 el grupo de Berger describió concentraciones de 0.1, 1.0, 0.1 y 0.5 al nacimiento, a los 10, 20 y 40 días postnatal, más tarde en

1982 Berger et al hizo un reporte más específico de las concentraciones de T en conejos macho encontrando 0.279 y 0.375 ng/ml al nacimiento y a los 40 días, respectivamente.

En las hembras, 4 camadas (6,7,8 y 10) presentaron concentraciones entre 1.7 y 2.46 ng/ml, lo que determinó que se incrementara el promedio final de la concentración de T. El resto de las camadas presentaron concentraciones acorde a lo reportado en la literatura. Estas discrepancias en los resultados sugieren que para otros experimentos, tal vez sea mejor aumentar el número de camadas y eliminar aquellas en la cual se observe mayor variabilidad en los datos.

Respecto a las concentraciones de Cor (25.65 y 23.80 ng/ml en machos y hembras respectivamente), éstas se hallaron dentro de lo reportado por Thornton et al (1962) quienes registraron concentraciones de 50 ng/ml en conejos macho a los 15 y 90 días postnatal. Después en 1973 Mulay et al publicó concentraciones de Cor al nacimiento de 11.5 ng/ml. Con base en estos resultados se puede decir que los gazapos de nuestro estudio no presentaron concentraciones que indiquen algún estado de estrés, el cual se supuso al observar la conducta de los gazapos al ser amamantados cada 24 horas. El evento de amamantamiento es determinante para la sobrevivencia de los mismos, quienes muestran movimientos corporales muy activos, que tal vez son normales de su conducta y posiblemente no están relacionados con estrés. Para hablar de concentraciones relacionadas a estrés en los gazapos, se debe conocer muy bien el patrón de respuesta del eje HPA en condiciones normales y de estrés durante las 24 horas; pero en la literatura no se encuentra este tipo de información. Para la rata, el patrón de respuesta del eje HPA se ha descrito muy bien, se conocen las concentraciones hormonales basales y ante un estresor (Walker et al. 1986; 1991), para los gazapos la información acerca de la concentración de Cor es poco precisa y no se conocen las concentraciones de Cor ante un estresor.

Por otra parte, los resultados mostraron que hay cierta variabilidad individual en las concentraciones de ambas hormonas incluso dentro de la misma camada. Esta variabilidad posiblemente sea un reflejo de la fisiología de cada gazapo, lo que indica que dos o más sujetos pueden tener ciertas similitudes en

sus parámetros hormonales pero no se comportan idénticamente en su habilidad para obtener leche o en su crecimiento. Además, debemos considerar que se trabajaron camadas mixtas sin estandarizar, lo cual también posiblemente contribuyó a la variabilidad en los datos, no sabemos como sea el patrón de respuesta en camadas del mismo sexo, donde la variabilidad tal vez sea menor puesto que no se deben comparar por igual a las hembras con los machos.

Contrariamente con la hipótesis del estudio, no encontramos una correlación positiva significativa entre las concentraciones de T y el peso final de los gazapos macho, resultado que está acorde con la ausencia de correlación significativa entre la concentración T y el rango en peso, lo que sugiere que la secreción de T puede estar influenciada por otros factores y no por el proceso de competencia asociado con la obtención de la leche en los gazapos. En el caso de Cor, se encontró una correlación positiva lo cual contradice la otra hipótesis del estudio acerca de hallar una correlación negativa.

En general las concentraciones de Cor en los gazapos estuvieron acorde al peso de los mismos en ambos sexos.

También queda de manifiesto que los gazapos de alto rango en la jerarquía pueden presentar tanto altas como bajas concentraciones de T y Cor con respecto a los de bajo rango. En la literatura se ha descrito, por lo menos en adultos que dependiendo de la especie, composición y estabilidad del grupo, los individuos dominantes pueden presentar mayor o menor actividad hipófisis-adrenocortical que sus subordinados (von Holst 1998).

Sin embargo, considero que estudiar el establecimiento de jerarquías y su relación con parámetros hormonales es complejo debido a que la secreción de una hormona puede estar sujeta a varios factores (por ejemplo el genético) que en conjunto afectan el estado hormonal del individuo.

Por otra parte, la jerarquía en peso de los gazapos no se estableció en base a un proceso de pelea o lucha directa como sucede en la mayoría de animales mamíferos adultos que viven en grupo, lo que probablemente si determinó la ausencia de correlación entre las hormonas y el rango en peso de los gazapos.

A pesar de la ausencia de información acerca de la relación entre jerarquía en peso y las concentraciones hormonales en los gazapos, nuestros resultados son el primer intento para estudiar tal relación.

Con base a lo anterior, se considera que la metodología en general fue la adecuada y que los resultados obtenidos nos permitieron cumplir con los objetivos planteados

Así, que para realizar estudios de jerarquías en peso como indicadores de competencia entre hermanos y la relación con parámetros hormonales, el conejo es un buen modelo, ya que existe muy poca información al respecto, además se pueden estudiar los gazapos sin influencia de la madre, lo que abre un campo de estudio muy amplio en la biología del desarrollo.

## 8. Conclusiones

Los resultados confirmaron que:

Hay correlaciones positivas entre el peso al nacimiento, ingesta de leche, índice de conversión de la leche a biomasa y peso final entre los gazapos de la misma camada.

Existe una jerarquía en peso entre los gazapos de la misma camada, tal jerarquía puede sufrir cambios en su orden dependiendo de la estabilidad de la camada.

Los gazapos de ambos sexos producen T y Cor en cantidades similares durante la primera semana de vida postnatal.

Las concentraciones de T no presentaron una correlación significativa con el peso, es decir la concentración de T fue independiente del peso final.

Las concentraciones de Cor correlacionaron positivamente con el peso final, así los gazapos más pesados en ambos sexos mostraron las concentraciones de Cor más altas.

No se encontraron evidencias claras de una relación entre la jerarquía en peso y las concentraciones de T y Cor.

Las concentraciones de T y Cor fueron congruentes con lo descrito en la literatura por lo que son reproducibles y proporcionan una base confiable para investigaciones futuras.

## 9. Bibliografía

Albert JD, Dyson Me, Walsh ML, Wong R (1988) Defensive aggression and testosterone dependent intermale social aggression are each elicited by food competition. *Physiol Behav* 43: 21-28

Albert JD, Petrovic MD, Walsh LM (1988) Competitive experience activates testosterone-dependent social aggression toward unfamiliar males. *Physiol Behav* 45: 723-727

Albert JD, Jonik HR, Walsh LM, Petrovic MD (1989) Testosterone supports hormone-dependent aggression in female rats. *Physiol Behav* 46: 185-189

Albert JD, Jonik HR, Watson VN, Gorzalka BB, Walsh LM (1990) Hormone-dependent aggression in male rats is proportional to serum testosterone concentration but sexual behavior is not. *Physiol Behav* 48: 409-416

Berger M, Chazaud J, Jean-Faucher C, Turckheim de M, Veyssiere G, Jean C (1976) Developmental patterns of plasma and testicular testosterone in rabbits from birth to 90 days of age. *Biol Reprod* 15: 561-564

Berger M, Corre M, Jean-Faucher C, Turckheim de M, Veyssiere G, Jean C (1979) Changes in the testosterone to dihydrotestosterone ratio in plasma and testes of maturing rabbits. *Endocrinology* 104:1450-1454

Berger M, Jean-Faucher C, Turckheim de M, Veyssiere G, Blanc RM, Poirier J, Jean C (1982) Testosterone (T), luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma of rabbits from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol* 99: 459-465

Brown ER (1994) Steroid and thyroid hormone receptors. En: Brown ER (ed) *An Introduction to Neuroendocrinology* Cambridge University Press, Cambridge, pp 147-182

Brown RT (1998) Steroid hormones, overview. En: Knobil E, Neill DJ (eds) *Encyclopedia of Reproduction* Academic Press, New York, pp 634-656

Buckingham CD, Cowell MA, Gillies EG, Herbison EA, Steel HJ (1997) Stress. The neuroendocrine system: anatomy, physiology and responses to stress. En: Buckingham CD, Cowell MA, Gillies EG (eds) *Stress, Stress Hormones and the Immune System* John Wiley & Sons, New York, pp 10-44

Collier JR (1998) Lactation, nonhuman. En: Knobil E, Neill DJ (eds) *Encyclopedia of Reproduction* Academic Press, New York, pp 973-979

Deutsch JA (1957) Nest building behaviour of domestic rabbits under seminatural conditions. *Brit J Animal Behav* 5: 53-54

Drickamer CL, Colledge W, Vessey HS (1982) *Animal Behavior. Concepts, Processes and Methods* Willard Grant Press, Boston, pp 510

Drummond H, Vázquez E, Sánchez CS, Martínez-Gómez M, Hudson R (2000) Competition for milk in the domestic rabbit: survivors benefit from littermate deaths. *Ethology* 106: 511-526

Ely LD, Henry PJ (1978) Neuroendocrine response patterns in dominant and subordinate mice. *Horm Behav* 10:156-169

Frank LG, Glickman EM, Licht P (1991) Fatal sibling aggression, precocial development, and androgens in neonatal spotted hyenas. *Science* 252: 702-704

Frederick W, Wilson DJ, Wilson DG (1994) Sex determination and differentiation. En: Knobil E, Neill DJ et al. (eds) *The Physiology of Reproduction* (second edition) Raven Press, New York, pp 3-22

Girolami L, Fontani G, Lodi L, Lupo C (1997) Agonistic behavior, plasma testosterone, and hypothalamic estradiol binding in male rabbits. *Aggressive Behav* 23: 33-40

Hartsock TG, Graves HB (1976) Neonatal behavior and nutrition-related mortality in domestic swine. *J Anim Sci* 42: 235-241

Herman PJ, Cullinan EW (1997) Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosc* 20: 78-84

Hudson R (1998) Potential of the newborn rabbit for circadian rhythms research. *Biol Rhythm Res* 29: 546-555

Hudson R, Distel H (1982) The pattern of behaviour of rabbit pups in the nest. *Behaviour* 79: 255-272

Hudson R, Distel H (1983) Nipple location by newborn rabbits: behavioural evidence for pheromonal guidance. *Behaviour* 85: 260-275

Hudson R, Distel H (1989) The temporal pattern of suckling in rabbit pups: a model of circadian synchrony between mother and young. En: Reppert SM (ed) *Development of Circadian Rhythmicity and Photoperiodism in Mammals* Perinatology Press, Boston, pp 83-102

Hudson R, Distel H (1990) Sensitivity of female rabbits to changes in photoperiod as measured by pheromone emission. *J Comp Physiol A* 167: 225-230

Hudson R, Altbäcker V (1994) Development of feeding and food preference in the European rabbit: environmental and maturational determinants. En: Galef BG, Mainardi M, Valsecchi P (eds) *Behavioral Aspects of Feeding: Basic and Applied Research in Mammals* Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland, pp 125-145

Hudson R, Distel H (1995) On the nature and action of the rabbit nipple-search pheromone: a review. En: Apfelbach R, Müller-Schwarze D, Reutter K, Weiler E (eds) *Chemical Signals in Vertebrates VII* Elsevier Science, Oxford, pp 223-232

Hudson R, Bilkó Á, Altbäcker V (1996) Nursing, weaning and the development of independent feeding in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Z Säugetierkunde* 61: 39-41

Hudson R, Cruz Y, Carrillo P, Martínez-Gómez M (1998) Conducta maternal en el conejo: un recordatorio de la diversidad en mamíferos. En: Velázquez-Moctezuma J (ed) *Biología de la Reproducción UAM*, México, pp 419-440

Hudson R, Cruz Y, Lucio RA, Ninomiya J, Martínez-Gómez M (1999). Temporal and behavioral patterning of parturition in rabbits and rats. *Physiol Behav* 66: 599-604

Hudson R, Drummond H, Martínez-Gómez M (2000a) Behavioral and physiological correlates of sibling competition in the rabbit. *Primer Congreso Nacional de Ciencias Naturales de CONACyT*, Veracruz, México

Hudson R, Schaal B, Martínez-Gómez M, Distel H (2000b) Mother-young relations in the European rabbit: physiological and behavioral locks and keys. *World Rabbit Sci* 8: 85-90

Jilge B, Hudson R (2001) Diversity and development of circadian rhythms in the European rabbit. *Chronobiol Internat* 18: 1-26

Johnson OE, Kamilaris CT, Chrousos PG, Gold WP (1992) Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis *Neurosci Biobehav Rev* 16: 115-130

Kass HE, Hechter O, Macchi IA, Mou WT (1954) Changes in patterns of secretion of corticosteroides in rabbits after prolonged treatment with ACTH. *Proc Soc Exp Biol Med* 85: 583-587

Lincoln DW (1974) Suckling: a time-constant in the nursing behaviour of the rabbit. *Physiol Behav* 13: 711-714

Macpherson AH (1969) The dynamics of Canadian Arctic fox populations. *Canadian Wildlife Service Report, Series 8*. Ottawa

Malinowska KW, Hardy RN, Nathanielsz PW (1972). Plasma adrenocorticosteroid concentrations immediately after birth in rat, rabbit and guinea pig. *Experientia* 28: 1366-1367

Manning A, Dawkins MS (1998) *An Introduction to Animal Behaviour* Cambridge University Press, Cambridge, pp 450

Martínez-Gómez M, Cruz Y, Lucio RA, Hudson R (2002) Motivación de la conducta maternal: En: Escobar C, Aguilar R (eds) *Motivación y Conducta: Sus Bases Biológicas* Manual Moderno, México, pp 299-317

Matuszczyk VJ, Silverin B, Larsson K (1990) Influence of environmental events immediately after birth on postnatal testosterone secretion and adult sexual behavior in the male rat. *Horm Behav* 24:450-458

Meaney JM, Bhatnagar S, Diorio J, Laracque S, Fronas D, O' Donnell D, Shanks N, Sharma S, Smythe J, Viau V (1993) Molecular basis for the development of individual differences in the hypothalamic-pituitary-adrenal stress response. *Cel Mol Neurobiol* 13: 321-346

Mendel M (1988) The effects of litter size variation on mother-offspring relationships and behavioural and physical development in several mammalian species (principally rodents). *J Zoo Soc Lond* 215: 15-34

Mock DW, Drummond H, Stinson CH (1990) Avian siblicide. *Am Sci* 78: 438-449

Mock DW, Parker GA (1997) *The Evolution of Sibling Rivalry* Oxford University Press, Oxford, pp 460

Mulay S, Giannopoulos G, Solomon S (1973) Corticosteroid levels in the mother and fetus of the rabbit during gestation. *Endocrinology* 93: 1342-1348

Nelson JR (1995) *An Introduction to Behavioral Endocrinology* Sinauer Associates, Inc Publisher Sunderland, Massachusetts, pp 611

Sachser N (1987) Short-term-responses of plasma norepinephrine, epinephrine, glucocorticoid and testosterone titers to social and non-social stressors in male guinea pigs of different social status. *Physiol Behav* 39: 11-20

Sachser N, Lick C (1989) Social stress in guinea pigs. *Physiol Behav* 46:137-144

Schuurman T (1980) Hormonal correlates of agonistic behavior in adult male rats. *Prog Brain Res* 415-424

Smith ET, French AJ (1997) Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in marmoset monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiol Behav* 62: 225-232

Slob KA, Ooms PM, Vreeburg MT (1980) Prenatal and early postnatal sex differences in plasma and gonadal testosterone and plasma luteinizing hormone in female and male rats. *J Endocrinol* 87: 8-87

Sulloway FJ (1997) *Rebeldes de Nacimiento* (Traducción del inglés) Planeta, Barcelona, pp 634

Thornton M, Hughes RE, Kelley CV, Ely R (1962) Influence of age on plasma adrenocorticosteroids in rats, rabbits and guinea pigs. *Am J Physiol* 202: 392-394

Vellucci VS (1997) The autonomic and behavioural responses to stress. En: Buckingham CD, Cowell MA, Gillies EG (eds) *Stress, Stress Hormones and the Immune System* John Wiley & Sons, New York, pp 49-70

Veyssiere G, Berger M, Faucher JC, de Turckheim M, Jean C (1975) Radioimmunoassay of testosterone in late fetal and newborn rabbit plasma, gonads and adrenal glands. *Arch Internat Physiol Bioch* 83: 667-682

von Holst D (1998) The concept of stress and its relevance for animal behavior. En: Slater BPJ, Rosenblatt SJ, Snowdon TC, Milinsky M (eds) *Stress and Behavior: Advances in the Study of Behavior* Academic Press, New York, pp 1-129

von Holst D, Hutzelmeyer H, Kaetzke P, Khaschei M, Schönheiter R (1999) Social rank, stress, fitness, and life expectancy in wild rabbits. *Naturwissenschaften* 86: 388-393

Walker CD, Perrin M, Vale W, Rivier (1986) Ontogeny of the stress response in the rat: role of the pituitary and the hypothalamus. *Endocrinology* 118: 1445 -1451

Walker CD, Scribner KA, Cascio CS, Dallman MF (1991) The pituitary-adrenocortical system of neonatal rats is responsive to stress throughout development in a time-dependent and stressor-specific fashion. *Endocrinology* 128: 1385-1395

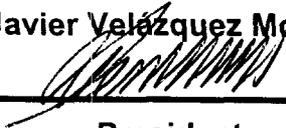
Wingfield CJ, Jacobs DJ, Tramontin DA, Perfito N, Meddles S, Maney LD, Soma K (2000) Toward an ecological basis of hormone-behavior interactions in reproduction of birds. En: Wallen K, Schneider EJ (eds) *Reproduction in Context: Social and Environmental Influences on Reproduction* MIT Press, Cambridge, Massachusettes, pp 85 -128

Wilson EO (1980) *Sociobiology (The Abridged Edition)* Harvard University Press, Cambridge, Massachusettes, pp 366

Zarrow MX, Denenberg VM, Anderson CO (1965) Rabbit: frequency of suckling in the pup. *Science* 150: 1835-1836

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa aprobó la presente tesis el día 7 de Mayo del 2002.

**Dr. Javier Velázquez Moctezuma**



---

Presidente

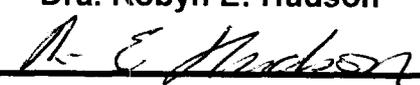
**Dra. Socorro Retana Márquez**



---

Secretaria

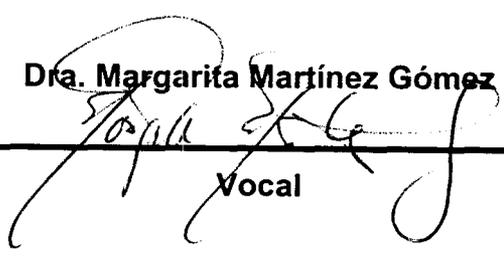
**Dra. Robyn E: Hudson**



---

Vocal

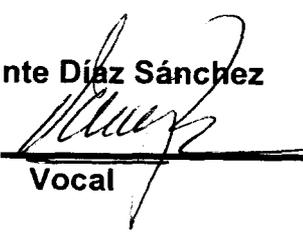
**Dra. Margarita Martínez Gómez**



---

Vocal

**Dr. Vicente Díaz Sánchez**



---

Vocal