

---

# TESINA PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

## Agrupamiento de machos caprinos: efectos sobre la reproducción

*Julia Giriboni*

*Orientador: Dr. Rodolfo Ungerfeld, Facultad de Veterinaria, Udelar*

*Co-orientadores: Dra. Lorena Lacuesta y Dr. Juan Pablo Damián, Facultad de  
Veterinaria, Udelar*

*Tribunal*

*Dra. Bettina Tassino, Dra. Natalia Uriarte y Dra. Marcia del Campo*

*Diciembre 2011*

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Sergio y Alicia, porque me enseñaron las cosas más importantes, porque gracias a su dedicación estoy donde quiero estar.

A mis hermanos, Juan y Sara, por acompañarme en el camino de la vida.

A “Unge”, por iniciarme en el camino de la investigación, por abrirme las puertas del laboratorio, por su confianza, y por sus enseñanzas.

A Lorena Lacuesta, por ser una guía constante, por transmitirme la pasión de trabajar con animales, gracias por los ánimos y las risas.

A Juan Pablo Damián, por transmitir sus conocimientos con tanta tranquilidad y paciencia, por su apoyo.

A Damián Sosa y Federico de León, por el cuidado diario de los animales y por facilitarnos el trabajo experimental.

A todos quienes colaboraron con el trabajo experimental, Sebastián da Rosa, Milton Pintos, María Laura Núñez, Zully Ramos y Carolina Fiol.

A Fernando Fumagalli por su atención constante a los animales.

A todos los compañeros del laboratorio, especialmente a Lorena Lacuesta y Matías Villagrán, por escuchar tantas dudas.

A Virginia y Carolina, por su apoyo incondicional, por llenar de alegría mis ratos desde hace tanto.

A Maribel, por su aliento constante, porque siempre tiene la palabra justa.

A Natalia, Irena y Victoria, porque nos acompañamos en la carrera y nos volvimos inseparables.

## LISTA DE ABREVIATURAS

SNS:	Sistema Nervioso Simpático
HHa:	Eje hipotálamo-hipofisario-adrenal
CRF:	Hormona liberadora de corticotropina
ACTH:	Hormona adrenocorticotropina
PFA:	Proteínas de fase aguda
CK:	Creatinkinasa
GnRH:	Hormona liberadora de gonadotrofinas
LH:	Hormona luteinizante
FSH:	Hormona folículo estimulante
HHG:	Eje hipotálamo-hipofisario-gonadal
GR:	Grupo residente
GI:	Grupo introducido
MM:	Motilidad de masa
MI:	Motilidad individual
R:	Retirada
Rp:	Retira del piso
At:	Amague topetazo
Eccu:	Empujón cabeza-cuerpo
Ecca:	Empujón cabeza-cabeza
Tnr:	Topetazo no recíproco
Tr:	Topetazo recíproco

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comportamiento agonista de cabras silvestres: choques.....	14
Figura 2. Comportamiento agonista de las cabras silvestres: carreras.....	14
Figura 3. Concentración de cortisol antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	26
Figura 4. Porcentaje de hematocrito antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	27
Figura 5. Glucemia antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	28
Figura 6. Proteínas totales antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	29
Figura 7. Concentración de creatinquinasa (CK) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	29
Figura 8. Concentración de albúmina antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	30
Figura 9. Peso corporal antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	31
Figura 10. Temperatura rectal antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	32
Figura 11. Concentración de testosterona antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	33
Figura 12. Características seminales antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen.....	34

## RESUMEN

El agrupamiento de animales de distinto origen genera estrés social, lo que lleva al aumento de la agresividad y afecta negativamente la reproducción. El objetivo del experimento fue determinar si agrupar chivos de distinto origen genera una respuesta de estrés y afecta la reproducción, y si dicha respuesta difiere entre animales residentes y animales introducidos. Para ello se utilizaron 17 chivos Saanen que fueron criados en dos grupos separados, el grupo residente (GR, n=8) y el grupo introducido (GI, n=9). Se consideró el día 0 hora 0, al momento inmediatamente antes en que ambos grupos se juntaron y pasaron a formar un único grupo para evaluar durante 29 días: respuesta de estrés (cortisol, parámetros hematológicas, peso corporal y temperatura rectal), parámetros reproductivos (testosterona, variables seminales: concentración seminal, cantidad total de espermatozoides, motilidad de masa, cantidad de espermatozoides motiles y porcentaje de espermatozoides con morfología normal en el eyaculado) y comportamiento agonista. Todas las variables se compararon mediante ANOVA para medidas repetidas. La concentración de cortisol aumentó durante el día 0 en ambos grupos ( $P < 0,0001$ ). Todos los parámetros hematológicos estudiados se modificaron en el tiempo ( $P < 0,05$ ) y no se encontraron diferencias entre grupos ( $P > 0,05$ ), a excepción de la albúmina, que fue mayor en GR ( $P = 0,004$ ). El peso corporal disminuyó en ambos grupos ( $P < 0,0001$ ). La temperatura rectal aumentó durante el día 0 ( $P < 0,0001$ ) y fue mayor para el GI ( $P = 0,02$ ). La concentración de testosterona en ambos grupos aumentó durante el día 0 ( $P < 0,0001$ ) y disminuyó durante los días restantes ( $P = 0,03$ ). No se encontraron diferencias entre los grupos para las variables seminales consideradas. La concentración seminal ( $P = 0,003$ ), la cantidad total de espermatozoides ( $P = 0,004$ ) y la cantidad de espermatozoides motiles ( $P = 0,003$ ) en el eyaculado disminuyeron en el tiempo. La cantidad de interacciones agonistas con contacto físico fue mayor al inicio del experimento ( $P = 0,002$ ). Se concluyó que agrupar chivos de distinto origen generó una respuesta de estrés y que dicha respuesta fue diferente entre los animales del GR y del GI. El agrupamiento de chivos de distinto origen afectó negativamente la reproducción a través de la disminución de la concentración de testosterona y de la calidad seminal.

## SUMMARY

Grouping animals produces social stress which leads to increased aggression and has negative effects on reproduction. The aim of the experiment was to determine whether grouping goats generates a stress response that affects reproduction and whether this response differs between resident animals and introduced animals. For this, 17 Saanen goats were assigned to either the resident (GR, n=8) or introduced group (GI, n=9). On day 0 hour 0 the groups were joined. During 29 days stress response (cortisol, hematological parameters), body weight, rectal temperature, reproductive parameters (testosterone, seminal concentration, total spermatozooids, motility mass, total motile spermatozooids and percentage of motile spermatozooids with normal morphology in the ejaculate) and agonistic interactions with and without physical contact were recorded. All variables were compared using ANOVA for repeated measures. The cortisol concentration increased during the day 0 in both groups ( $P < 0.0001$ ). All hematologic parameters were modified over time ( $P < 0.05$ ) and no differences between groups ( $P > 0.05$ ) were observed, except albumin, which was greater in GR ( $P = 0.004$ ). Body weight decreased in both groups ( $P < 0.0001$ ). Rectal temperature increased during the day 0 ( $P < 0.0001$ ) and was higher for GI ( $P = 0.02$ ). Testosterone concentration in both groups increased during the day 0 ( $P < 0.0001$ ) and decreased during the remaining days ( $P = 0.03$ ). No differences were found between groups for the seminal variables considered ( $P > 0.05$ ). The seminal concentration ( $P = 0.003$ ), total spermatozooids ( $P = 0.004$ ) and total motile spermatozooids ( $P = 0.003$ ) were decreased in the ejaculate. The amount of agonistic interactions with physical contact was higher at the beginning of the experiment ( $P = 0.002$ ) and the agonistic interactions without physical contact decreased ( $P = 0.0002$ ). It was concluded that grouping goats elicited a stress response and that this response was different among the animals of GR and GI. Mixing goats negatively affected the reproduction through decreased testosterone levels and semen quality.

# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	2
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	3
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	4
<b>RESUMEN</b> .....	5
<b>SUMMARY</b> .....	6
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	9
1.1. <i>Agrupamiento de animales de distinto origen</i> .....	9
1.2. <i>Fisiología del estrés</i> .....	10
1.2.1. <i>Activación del eje simpático-adrenomedular</i> .....	10
1.2.2. <i>Activación del eje HHA</i> .....	11
1.3. <i>Efectos del estrés</i> .....	12
1.4. <i>Estrés y comportamiento</i> .....	13
1.4.1. <i>Comportamiento agonista de los caprinos</i> .....	13
1.4.2. <i>Efectos del estrés sobre el comportamiento</i> .....	15
1.5. <i>Estrés y reproducción</i> .....	16
1.5.1. <i>Endocrinología de la reproducción en el macho</i> .....	16
1.5.2. <i>Efectos del estrés sobre la reproducción</i> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	19
2.1. <i>Objetivo general</i> .....	19
2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	19
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	20
3.1. <i>Animales y su manejo</i> .....	20
3.2. <i>Obtención y procesamiento de las muestras sanguíneas</i> .....	21

3.2.1. Análisis hormonal.....	21
3.2.2. Análisis hematológicos.....	21
3.3. Respuesta de estrés.....	21
3.3.1. Cortisol.....	21
3.3.2. Parámetros hematológicos.....	22
3.4. Peso corporal y temperatura rectal.....	22
3.5. Parámetros reproductivos.....	22
3.5.1. Testosterona.....	22
3.5.2. Características seminales.....	23
3.6. Comportamiento agonista.....	24
3.7. Análisis estadístico.....	25
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
4.1. Respuesta de estrés.....	26
4.1.1. Cortisol.....	26
4.1.2. Parámetros hematológicos.....	27
4.2. Peso corporal.....	31
4.3. Temperatura rectal.....	31
4.4. Parámetros reproductivos.....	32
4.4.1. Testosterona.....	32
4.4.2. Características seminales.....	33
4.5. Comportamiento agonista.....	35
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>37</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>42</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

### *1.1. Agrupamiento de animales de distinto origen*

En los sistemas productivos, el agrupamiento de animales de distinto origen (de distinta procedencia), es frecuente, dado que es necesario para organizar a los individuos según su edad, peso, capacidad productiva o reproductiva (Bøe y Færevik, 2003; Veissier et al., 2001). El agrupamiento de animales de distinto origen genera estrés social desencadenado por la competencia entre ellos. La competencia entre los animales es provocada por el acceso diferencial a recursos, ya sea espacio, alimento, agua o pareja sexual (Estevez et al., 2007; Tamashiro et al., 2005). Además, desencadena una respuesta fisiológica de estrés, inhibe la respuesta inmune y disminuye el desempeño reproductivo de los individuos (Gupta et al., 2005; Sapolsky, 2000).

Agrupar animales de distinto origen lleva a la interrupción temporal de la jerarquía social previamente establecida (Andersen et al., 2008). La desestabilización de la organización social genera aumento de la agresividad. La alta frecuencia de las interacciones agresivas que ocurre luego del agrupamiento puede provocar la disminución de la tasa de ingesta de alimentos y disminución del crecimiento corporal, y por tanto afectar el éxito reproductivo (Andersen et al., 2008). Además del estrés social que significa el agrupamiento de animales de distinto origen, los animales pueden sufrir lesiones corporales y una menor ganancia de peso (Estevez et al., 2007). El aumento de la actividad física y las lesiones causadas por la inestabilidad social provocan también aumento de la temperatura corporal (Heetkamp et al., 1995).

El transporte es otro manejo habitual al que son sometidos los animales de producción, y se considera, junto con la manipulación, uno de los estresores más importantes (Grandin, 1997). El estrés del transporte provoca aumento de la temperatura y pérdida de peso corporal, además de los cambios endócrinos característicos de la respuesta de estrés (Kannan et al., 2000; Knowles, 1999).

## *1.2. Fisiología del estrés*

Originalmente, en el ámbito de la biología, se describió al estrés como la disrupción de la homeostasis (Selye, 1936; citado por von Borrell, 2000), pero aún hoy no se ha logrado consenso para una definición precisa del término (McEwen, 2000). La respuesta de estrés puede definirse como la respuesta del organismo frente a una situación de amenaza, los factores de estrés, que altera la homeostasis (River y Riviest, 1991). El aumento de la liberación de hormonas adrenales, se define clásicamente como estado de estrés (von Borrell, 2000). La respuesta de estrés se caracteriza también por el aumento de la frecuencia cardíaca y la temperatura corporal (Moberg, 1991).

Los factores de estrés, o estresores, son los estímulos físicos o psicológicos que desencadenan la respuesta de estrés (DeVries et al., 2003). Las alteraciones del equilibrio homeostático son percibidas por el organismo como una señal integrada que involucra señales sensitivas y cambios a nivel sanguíneo (Ferin, 2006). Estas modificaciones provocan cambios fisiológicos que permiten a los individuos retornar al estado de homeostasis, modificando el metabolismo y mejorando así la probabilidad de supervivencia.

Durante la respuesta de estrés se activan dos sistemas: el eje simpático-adrenomedular (Sistema Nervioso Simpático -SNS- y médula adrenal) y el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HHA) (Tilbrook et al., 2000).

### *1.2.1. Activación del eje simpático-adrenomedular*

La activación del SNS y de la médula adrenal involucra la liberación de catecolaminas, que ayuda a los individuos a movilizar rápidamente fuentes de energía para cubrir los requerimientos metabólicos necesarios para una reacción de huida (Dantzer y Mormède, 1983).

Las neuronas noradrenérgicas ubicadas en la corteza cerebral, el sistema límbico, y el núcleo reticulado, estimulan la médula de las glándulas adrenales a través de los nervios simpáticos. Las glándulas adrenales liberan las catecolaminas adrenalina y

noradrenalina (Guyton y Hall, 2006). Las catecolaminas actúan en conjunto con los glucocorticoides para aumentar la disponibilidad de glucosa a través de su acción glucogenolítica (Dickson, 1999). El aumento de la disponibilidad de glucosa prepara al individuo para una respuesta activa que le permita superar la situación de estrés (Ferin, 2006). La adrenalina favorece la redistribución del flujo sanguíneo hacia los músculos para permitir la reacción de huida: contrae los vasos sanguíneos a nivel cutáneo y hepático, dilata los vasos sanguíneos de la musculatura esquelética (Dickson, 1999) y provoca el aumento de la actividad cardíaca (Guyton y Hall, 2006). Se conoce además que las catecolaminas disminuyen la liberación de gonadotrofinas y pueden inhibir la reproducción, pero el mecanismo por el que esto sucede aún no está claro (Álvarez, 2008).

### *1.2.2. Activación del eje HHA*

La respuesta de estrés se caracteriza por un aumento de la actividad del eje HHA. Las hormonas más importantes de dicho eje se denominan generalmente “hormonas de estrés” y son: hormona liberadora de corticotropina (CRF), hormona adrenocorticotropina (ACTH) y los glucocorticoides (DeVries et al., 2003).

En respuesta a un estresor, algunas neuronas hipotalámicas liberan CRF. La liberación de CRF provoca un aumento en la liberación de ACTH desde la adenohipófisis que estimula a su vez la liberación de glucocorticoides desde la corteza de la glándula adrenal (Ferin, 2006; Moberg, 1991; Sapolsky et al., 2000).

El cortisol, glucocorticoide de mayor importancia en los rumiantes, cumple importantes funciones en el metabolismo de las proteínas, los carbohidratos y las grasas (Guyton y Hall, 2006). La liberación de cortisol es regulada por un mecanismo de retroalimentación negativa. Cuando la concentración de cortisol en sangre aumenta, éste actúa directamente sobre el hipotálamo y sobre la adenohipófisis, inhibiendo la síntesis de CRF y ACTH, respectivamente (Guyton y Hall, 2006; Keller-Wood y Dallman, 1984). El cortisol actúa sobre el tejido adiposo, el hígado, los músculos y el páncreas, provocando la liberación de aminoácidos y ácidos grasos libres como fuente de energía, o la síntesis de nuevos compuestos (Guyton y Hall, 2006).

### *1.3. Efectos del estrés*

El estrés es una respuesta fisiológica compleja, que involucra cambios a nivel endócrino, comportamental y bioquímico, por lo que deben considerarse diferentes parámetros para describir y cuantificar la respuesta de estrés (Moberg, 2000).

El sistema inmune también interviene en el restablecimiento de la homeostasis y es uno de los más afectados por el estrés (Ferin, 2006) debido al aumento en la concentración de cortisol durante esta situación (Dobson et al., 2000). Cuando el sistema inmune se activa, se liberan citoquinas que actúan sobre las células hipotalámicas productoras de CRF. Las citoquinas estimulan el eje HHA y se produce la liberación de glucocorticoides (Dunn, 2000). Esta es la respuesta proinflamatoria, y es uno de los primeros cambios fisiológicos que se manifiesta en respuesta a una enfermedad o inflamación. La respuesta inmune es regulada mediante retroalimentación negativa con los glucocorticoides, que suprimen la expresión de las citoquinas y disminuyen las señales proinflamatorias (McKey y Cidlowski, 1999).

Durante la respuesta proinflamatoria se liberan las denominadas proteínas de fase aguda (PFA). Estas proteínas se liberan desde los hepatocitos cuando son estimulados por las citoquinas (Arthington et al., 2003). Probablemente, las PFA cumplen funciones antiinflamatorias preservando a los tejidos de posibles daños y manteniendo su función (Kushner y Mackiewicz, 1987). Por ejemplo, la albúmina es una PFA negativa, es decir, disminuye su concentración luego de un evento de estrés (Petersen et al., 2004).

Por otro lado, la concentración de proteínas séricas y el porcentaje de hematocrito aumentan en animales que son enfrentados a estresores (Patterson et al., 1995), y la concentración de la enzima creatinquinasa (CK) se eleva si ocurre daño e intensificación de la actividad muscular (Berg y Haralambie, 1978; Kannan et al., 2000).

## 1.4. Estrés y comportamiento

### 1.4.1. Comportamiento agonista de los caprinos

El comportamiento de los individuos refleja la forma en que se adaptan al ambiente y es un buen indicador de su bienestar (Miranda de la Lama y Mattiello, 2010). El comportamiento social cumple fundamentalmente con funciones de comunicación y cohesión en el grupo (Miranda de la Lama y Mattiello, 2010). En respuesta a la competencia entre los individuos, las interacciones agonistas intermedian el establecimiento y mantenimiento de las relaciones de dominancia del grupo para ganar y defender recursos (Shackleton y Shank, 1984).

En el comportamiento agonista se pueden diferenciar interacciones que involucran contacto físico y otras que no (Miranda de la Lama y Mattiello, 2010). En los caprinos, los comportamientos que involucran contacto físico son los choques entre individuos, las mordidas y los comportamientos activos de retirada (Andersen et al., 2008). Los choques son comportamientos que involucran una participación activa de dos individuos. Ocurren en contextos en los que se determina o reafirma la dominancia. Los individuos se posicionan enfrentados entre sí y uno o ambos oponentes se paran sobre sus patas traseras. Giran el tronco y bajan su cabeza para golpear entre sí sus cuernos con gran fuerza. Los pelos a lo largo de la línea media del cuerpo se erizan. Luego del choque, uno o ambos oponentes toman una postura rígida de advertencia con la cabeza en alto (Figura 1). Puede ocurrir que el encuentro no finalice allí y que se produzca un nuevo enfrentamiento en el que ambos individuos entrecruzan sus cuernos y tratan de girarse uno al otro (Shackleton y Shank, 1984). Los choques también pueden ocurrir cuando ambos animales tienen todas sus patas apoyadas en el suelo y uno de ellos golpea con su cabeza al otro, en la cabeza o en alguna otra parte de su cuerpo (Tölü y Savaş, 2007). Las mordidas son menos frecuentes que los choques y se supone que son realizadas en mayor cantidad por individuos sin cuernos. Consisten en que uno de los individuos muerde alguna parte del cuerpo del otro animal y la tira hacia afuera con su boca (Tölü y Savaş, 2007). En el comportamiento activo de retirada uno de los individuos fuerza a otro a dejar su posición de descanso o

lugar de alimentación empujándolo o golpeándolo con la cabeza (Andersen et al., 2008).

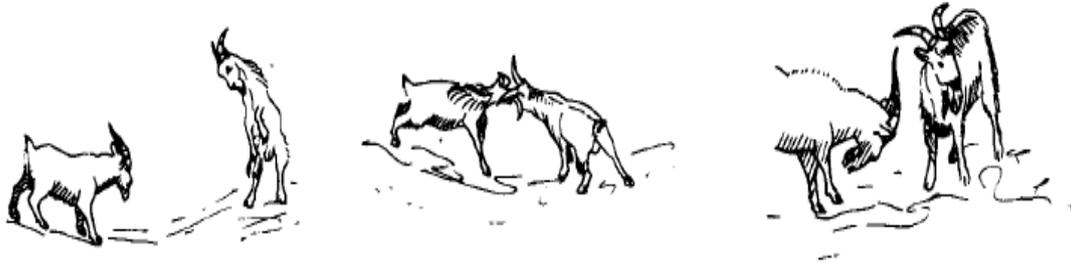


Figura 1. Comportamiento agonista de cabras silvestres: choques. A la izquierda se muestra el posicionamiento previo al choque, en el centro el choque y a la derecha la postura de advertencia luego del mismo (Tomado de Shackleton y Shank, 1984).

Los comportamientos que no incluyen contacto físico son las carreras o persecuciones, los despliegues de amenaza y los escapes y retiradas pasivas (Andersen et al., 2008). Durante las persecuciones, uno de los individuos se acerca al otro con la cabeza gacha y el hocico hacia arriba, moviendo la cabeza hacia los lados, con la lengua hacia fuera y en movimiento, y emitiendo vocalizaciones graves (Shackleton y Shank, 1984). Durante la persecución también ocurren patadas delanteras. Uno de los individuos patea con una de las patas delanteras estirada y rígida entre las patas traseras a su oponente (Geist, 1964) (Figura 2). Durante los despliegues de amenaza uno de los individuos se acerca hacia otro corriendo rápidamente o pateando, o dirige su cabeza hacia la del otro animal, pero sin tocarlo (Andersen et al., 2008). En los escapes, uno de los individuos aleja su cabeza y su cuerpo de otro que se le aproxima. Los comportamientos pasivos de retirada son iguales a los de escape, pero se dan cuando previamente ocurrió alguna interacción social (Andersen y Bøe, 2007).

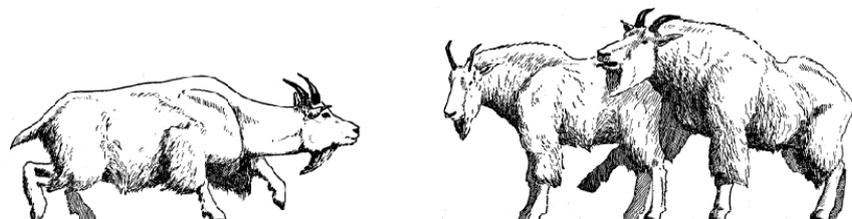


Figura 2. Comportamiento agonista de cabras silvestres: carreras. A la izquierda se muestra un macho en postura de persecución con la cabeza gacha, y a la derecha se muestra un macho dirigiendo una patada a su oponente, con la lengua hacia fuera y la boca entreabierta (Tomado de Geist, 1964).

#### 1.4.2. Efectos del estrés sobre el comportamiento

La respuesta de estrés también se acompaña de cambios en el comportamiento de los individuos. Se ha demostrado que la concentración de cortisol está relacionada con la forma e intensidad de determinados comportamientos. Por ejemplo, en ratas, una alta concentración de cortisol provoca el aumento de los comportamientos relacionados con el miedo (Leshner, 1978) y en ratones activa las conductas de sumisión durante los encuentros agonistas (Lesnher y Politch, 1979). Además, los encuentros agonistas pueden resultar estresantes *per se* (Kollack-Walker et al., 1997). Se conoce también que los cambios hormonales que ocurren en los individuos en respuesta al estrés dependen del estado emocional de los mismos. La respuesta endócrina es modulada por la respuesta comportamental, y viceversa (Dantzer y Mormède, 1983).

Luego del agrupamiento de animales de distinto origen se producen cambios comportamentales. Cuando los individuos de un grupo reciben a nuevos individuos se produce un aumento de interacciones agonistas, a través de las cuales se establecen y mantienen las nuevas relaciones de dominancia (Addison y Baker, 1982; Andersen et al., 2008; Barash, 1977). Luego de establecidas las relaciones de dominancia, la alta intensidad inicial de las interacciones agonistas disminuye y los comportamientos pasan a ser de amenaza y desplazamiento (Bernstein y Gordon, 1974). En la mayoría de los trabajos sobre agrupamiento de animales de distinta procedencia, el agrupamiento ocurre en un lugar neutral, que no fue ocupado anteriormente por ninguno de los individuos (Gupta et al., 2005; Mench et al., 1990; Veissier et al., 2011), ya que los animales que previamente ocuparon un lugar, tienen ventaja de residencia en las interacciones sociales (Stricklin et al., 1980).

La introducción de individuos nuevos a un grupo estable de cabras provoca un aumento de la agresividad y disrupción de la estructura social (Andersen et al., 2008). Sin embargo, se desconocen las consecuencias del agrupamiento de individuos de distinto origen sobre el bienestar y la producción en la especie caprina.

## *1.5. Estrés y reproducción*

### *1.5.1. Endocrinología de la reproducción en el macho*

El hipotálamo produce y secreta la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), que actúa sobre la adenohipófisis. En respuesta a la secreción de GnRH, la adenohipófisis sintetiza y secreta las gonadotrofinas hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH). En los machos, las gonadotrofinas actúan directamente sobre los testículos: la LH induce la producción testicular de testosterona a través de la estimulación de las células de Leydig, y la FSH regula la espermatogénesis actuando sobre las células de Sertoli. La testosterona en el macho cumple tres funciones principales: estimula la espermatogénesis, interviene en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y desencadena el comportamiento sexual. Además, ejerce una retroalimentación positiva o negativa sobre los centros nerviosos que regulan la secreción de LH y FSH (Chemineau y Delgadillo, 1993).

### *1.5.2. Efectos del estrés sobre la reproducción*

El estrés puede ser considerado beneficioso ya que desencadena respuestas adaptativas que permite a los individuos enfrentar los cambios del ambiente (Ferin, 2006). Pero, cuando el individuo sufre los efectos negativos del estrés, las funciones que no son de importancia vital se inhiben para destinar energía a funciones que sí son vitales (Ferin, 2006). En este contexto, la inhibición de la reproducción sería favorable, debido a que la inversión en preñez en condiciones adversas puede ser desventajosa (Álvarez, 2008).

Bajo situaciones de estrés, cuando el eje HHA se activa, las hormonas liberadas por éste alteran el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (HHG) (Wingfield y Sapolsky, 2003). La activación del eje HHG desencadena respuestas fisiológicas y comportamentales que afectan negativamente la reproducción (Sapolsky et al., 2000).

Durante la respuesta de estrés se activan varios sistemas que pueden afectar la reproducción, ya sea mediante sus efectos sobre el hipotálamo, sobre la hipófisis o sobre las gónadas, aunque generalmente el efecto principal ocurre a nivel central (Ferin, 2006; Rivier y Rivest, 1991; Tilbrook et al., 2000). Los glucocorticoides liberados durante la respuesta de estrés alteran la secreción de GnRH, de las gonadotrofinas y también la síntesis de las hormonas sexuales (Moberg, 1991). De hecho, las gónadas disminuyen su actividad esteroidogénica debido a que reciben una menor estimulación provocada por la inhibición de la secreción de las gonadotrofinas (Ferin, 2006). Aunque en poco detalle, se conoce que los esteroides gonadales modulan la magnitud de la respuesta del eje HHA al estrés (Ferin, 2006). Además, la CRF también funciona como un potente inhibidor de la secreción de GnRH (Li et al., 2008; Rivier y Vale, 1985).

El cortisol es capaz de actuar directamente sobre el hipotálamo y afectar la secreción de GnRH, y sobre la hipófisis para reducir la secreción de gonadotrofinas, especialmente de la LH (Moberg, 1991). Esta disminución en la secreción de LH puede deberse a la incapacidad de la GnRH de estimular la síntesis de LH o a la insensibilidad de las células gonadotrópicas de la hipófisis a la GnRH. Por otro lado, los glucocorticoides pueden modificar la retroalimentación que los esteroides sexuales ejercen sobre las células gonadotrópicas y alterar la secreción de LH y FSH (Moberg, 1991; Tamashiro et al., 2005; Tilbrook et al., 2000). A su vez, el cortisol actúa directamente sobre los testículos y disminuye la cantidad de receptores de LH (Bambino y Hseuh, 1981). Por otro lado, las gonadotrofinas afectan la actividad y regulación del eje HHA, actuando sobre el hipotálamo, la hipófisis y las glándulas adrenales (Viau y Meaney, 1996). Por último, se ha propuesto que la ACTH podría tener un efecto independiente sobre las gónadas y modificar la secreción de las gonadotrofinas (Moberg, 1991).

La disminución o incluso inhibición de la secreción de LH durante la respuesta de estrés puede llevar a la disminución de la secreción de testosterona (Sapolsky, 1983; Wingfield y Sapolsky, 2003). Esta disminución en la secreción de testosterona puede deberse a la acción directa de la CRF, ACTH o los glucocorticoides sobre las gónadas (Rivier y Rivest, 1991). Por otro lado, en ratas macho, gallos y hombres, se ha demostrado que ocurre un aumento transitorio de la concentración plasmática de LH y

testosterona durante las etapas iniciales de la respuesta de estrés (Heiblum et al., 2000; Mann et al., 1986; Sutton et al., 1973). Esto puede deberse a que las catecolaminas, especialmente la noradrenalina, pueden estimular la síntesis de GnRH y LH, y así aumentar la liberación de testosterona (Rivier y Rivest, 1991). Los efectos del estrés de agrupamiento sobre la concentración de testosterona y la calidad seminal en chivos (machos caprinos; cabras macho) varía según el estatus social de los individuos y la experiencia previa de los mismos (Ortiz de Montellano, 2004).

Debido a que durante la respuesta de estrés la liberación de glucocorticoides aumenta, se supone que tienen un rol principal en la mediación de los efectos inhibitorios sobre la reproducción (Tilbrook et al., 2000). Algunos autores proponen que el efecto mediador puede deberse a su efecto directo sobre las gónadas, y al efecto inhibitorio sobre la secreción de las gonadotropinas, impidiendo la actividad reproductiva (Juniewicz et al., 1987; Rivier y Rivest, 1991). Otros autores no han encontrado evidencia de dicho efecto y proponen que los glucocorticoides no serían los principales mediadores de la secreción de LH, ya que ésta no se ve afectada por la administración de cortisol ni de otros glucocorticoides (Fuquay y Moberg, 1983). Además de las alteraciones endócrinas ya descritas, se inhiben la función eréctil, y las conductas sexuales proceptivas y receptivas (Wingfield y Sapolsky, 2003).

En síntesis, el estrés social debido al agrupamiento de animales de distinto origen puede afectar la reproducción a distintos niveles. Los efectos de esta práctica sobre la reproducción de diversas especies han sido bien descritos. Sin embargo, no existe información sobre cómo este manejo puede afectar la reproducción en chivos adultos, o si existen diferencias en la respuesta de estrés en chivos residentes e introducidos. Por tal motivo, se planteó la hipótesis de que *agrupar chivos adultos de distinto origen genera una respuesta de estrés y afecta la reproducción, a través de cambios en la concentración de testosterona y en la calidad seminal, y que esta respuesta es mayor en los chivos introducidos.*

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. *Objetivo general*

- Determinar si agrupar chivos de distinto origen genera una respuesta de estrés y afecta la reproducción y si dicha respuesta difiere entre animales residentes y animales introducidos.

### 2.2. *Objetivos específicos*

- Determinar si se observan diferencias luego del agrupamiento entre chivos residentes e introducidos en:
  - la respuesta de estrés: concentración de cortisol, porcentaje de hematocrito, glucemia y concentración de proteínas séricas totales, albúmina y CK, peso corporal y temperatura rectal
  - los parámetros reproductivos: concentración de testosterona y características seminales (concentración seminal del eyaculado, cantidad total de espermatozoides en el eyaculado, cantidad de espermatozoides motiles y porcentaje de espermatozoides con morfología normal en el eyaculado)
  - la cantidad de interacciones agonistas

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Animales y su manejo

El experimento se realizó en el Campo Experimental Nº 2 de la Facultad de Veterinaria, Libertad, San José, durante los meses de junio y julio de 2010. Se utilizaron 17 chivos (*Capra hircus*) de la raza Saanen, de aproximadamente 1 año de edad con un peso promedio de  $39,9 \pm 1,4$  kg.

Todos los individuos fueron hijos del mismo padre. Se mantuvieron como un grupo único hasta el momento del destete, al mes de edad. A partir del mes de edad se mantuvieron en dos grupos separados. El grupo residente (GR, n=8) fue criado en el campo experimental en Libertad y el grupo introducido (GI, n=9) en las instalaciones de la Facultad de Veterinaria, en Montevideo. Durante todo el experimento, los animales fueron alimentados de acuerdo a sus requerimientos para mantenimiento con fardos de alfalfa y ración, y dispusieron de agua *ad libitum*.

Se consideró el día 0 hora 0, al momento inmediatamente antes en que ambos grupos se juntaron y pasaron a formar un único grupo para registrar variables de la respuesta de estrés, reproductivas y comportamentales durante 29 días. Los animales del grupo GI fueron transportados en camión durante 60 minutos hasta el corral del grupo GR.

Las muestras de sangre obtenidas en el día -7, cuando los grupos estaban separados, fueron tomadas simultáneamente por 2 personas, una en Montevideo (GI) y otra en Libertad (GR).

En el día 0, las extracciones sanguíneas fueron realizadas por 4 personas, dentro del corral de GR, donde se encontraban todos los animales juntos. Cada persona tomó muestras de sangre de 4 a 5 animales asignados al azar, de forma de obtener muestras de los 17 animales. Las muestras fueron procesadas por otras 2 personas, a medida que se fueron obteniendo.

En los días restantes, las muestras sanguíneas de todos los animales fueron obtenidas por una sola persona, en un lugar apartado del corral. La duración aproximada de este procedimiento fue de 15 min en total. A continuación, se extrajeron muestras de

semen de todos los animales. En este caso las muestras se obtuvieron de a 1 animal por vez, en un lugar apartado del corral. Las muestras de semen fresco fueron analizadas siempre por el mismo observador y las muestras de semen fijadas fueron analizadas por 2 observadores.

### *3.2. Obtención y procesamiento de las muestras sanguíneas*

#### *3.2.1. Análisis hormonal*

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por venopunción yugular y se dejaron coagular durante 1 h a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron durante 10 a 20 min para obtener el suero. Los tubos con el suero se conservaron en tubos eppendorfs a -20° C hasta su análisis para la determinación de cortisol y testosterona.

#### *3.2.2. Análisis hematológicos*

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por venopunción yugular. Para la medición de hematocrito y glucemia se tomaron muestras en tubos con heparina y con fluoruro de sodio y yodoacetato, respectivamente. La concentración de proteínas séricas totales, CK y albúmina se midió a partir del suero. Para la obtención del suero se dejó la sangre durante 1 h a temperatura ambiente y luego se centrifugó durante 10 a 20 min. El suero y el plasma fueron almacenados en tubos eppendorfs a -20°C hasta su análisis.

### *3.3. Respuesta de estrés*

#### *3.3.1. Cortisol*

Las muestras para la medición de cortisol fueron tomadas durante el día 0, a los -60 min y a partir de la hora 0 cada 30 min por un período de 2 h y a los 180, 240 y 300 min. La concentración de cortisol se determinó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG; Count-A-Count, Siemens, Los Angeles, CA, EEUU) en un solo ensayo. El límite de detección fue 10,5 nmol/L. Los coeficientes de variación intraensayo para los controles bajo, medio y alto fueron 25,2%, 11,2% y 3,6% respectivamente.

### 3.3.2. *Parámetros hematológicos*

#### *Hematocrito, glucemia, proteínas totales, CK y albúmina*

El porcentaje de hematocrito se obtuvo por centrifugación de la sangre en microcentrífuga y según lectura de la tabla correspondiente se determinaron todos los valores. La glucemia, la concentración de proteínas totales, CK y albúmina se midieron por espectrofotometría mediante kits comerciales (Biosystem, Barcelona, España). Para la medición de hematocrito, glucemia y CK se tomaron muestras durante el día 0, a los -60, 0, 30, 60, 120 y 300 min. La concentración de proteínas totales y de albúmina se midió el día -7, durante el día 0, a los -60, 0, 30, 60, 120 y 300 min, y durante los días 2, 5, 9 y 15.

#### 3.4. *Peso corporal y temperatura rectal*

Los animales fueron pesados en los días -7, 2, 5, 8, 13, 22 y 29. La temperatura rectal se midió con un termómetro digital durante el día 0 a los -60, 0, 30, 60, 120, y 300 min, y en los días 1 al 6, 8, 9, 12, 13, 15, 19, 22 y 29.

### 3.5. *Parámetros reproductivos*

#### 3.5.1. *Testosterona*

Las muestras de sangre para la medición de testosterona fueron tomadas durante el día 0, a los -60 y a partir de la hora 0 cada 30 min por un período de 2 h, y a los 180, 240 y 300 min. También se tomaron muestras para la medición de testosterona en los días -7, 2 al 6, 8, 9, 12, 13, 15 y 19, en dos horarios (mañana y tarde). La concentración de testosterona se determinó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG; Count-A-Count, Siemens, Los Angeles, CA, EEUU) en tres ensayos. El límite de detección de cada uno de los ensayos fue 0,13, 0,23 y 0,33 nmol/L. Los coeficientes de variación intraensayo para los controles bajo y alto fueron 13,4% y 8,3% respectivamente, y los coeficientes de variación interensayo para los controles bajo y alto fueron 14,3% y 8% respectivamente.

### 3.5.2. Características seminales

#### *Colección seminal*

Las muestras seminales se extrajeron mediante electroeyaculación. El pene se sostuvo y mantuvo en una copa de vidrio previamente calentado a 37°C en baño maría para colectar el semen. El estímulo eléctrico de 8 V se aplicó cada 3 s, alternado con períodos de igual duración, hasta que todo el semen fue colectado. Se tomaron muestras en los días -7, 2, 5, 8, 13, 22 y 29.

#### *Evaluación seminal*

Se evaluó el semen fresco y se determinaron las siguientes características: volumen, motilidad de masa (MM) e individual (MI), concentración espermática y porcentaje de espermatozoides con morfología normal. Para evaluar la calidad seminal se consideraron las siguientes características (Mateos, 1990): concentración espermática, cantidad total de espermatozoides, MM, cantidad de espermatozoides motiles y porcentaje de espermatozoides con morfología normal. El volumen se midió utilizando micropipetas de diferentes calibraciones. Para determinar la MM se evaluó en escala de 0 a 4 la cantidad de remolinos sobre los límites de la gota de semen a 37°C en el microscopio de luz, a bajo aumento (40x). La MI se evaluó en una preparación de semen diluido con leche descremada UHT a 37°C. En el microscopio de luz a gran aumento (400x) se calculó la proporción de espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo en varios campos de visión. La concentración espermática y el porcentaje de espermatozoides con morfología normal se calcularon a partir de muestras de semen diluidas y fijadas en solución de formol.

La concentración espermática se calculó utilizando una cámara de Neubauer, contando los espermatozoides ubicados sobre los límites izquierdo e inferior de 5 zonas de la cámara, y aplicando la siguiente fórmula: factor de dilución x 10.000 x cantidad de espermatozoides contados en la cámara de Neubauer /5.

A partir de la concentración seminal y del volumen se calculó la cantidad total de espermatozoides (concentración espermática x volumen).

A partir de la MI se calculó la cantidad de espermatozoides motiles ( $MI \times \text{cantidad total de espermatozoides}/100$ ).

El porcentaje de espermatozoides con morfología normal se calculó sobre una muestra de 100 espermatozoides observados en una muestra.

### *3.6. Comportamiento agonista*

Para las observaciones del comportamiento agonista, los animales fueron identificados individualmente con números pintados sobre el pelaje del tórax lateral. Los muestreos se realizaron durante 30 min en el período de mayor actividad de la mañana (08:00 a 10:00 h) en los días 1, 3, 4, 6, 9, 12, 15, 19 y 28. Las observaciones se realizaron simultáneamente por dos observadores. Cada observador realizó muestreos focales sobre 2 ó 3 individuos a la vez, de modo de finalizar el registro de los 17 individuos en cada día. A cada observador se le asignó al azar un individuo de cada grupo en los casos en que se registró el comportamiento de 2 individuos, y, en los casos en los que se registró el comportamiento de 3 individuos, 2 fueron de un mismo grupo y 1 del otro grupo.

Durante cada sesión de muestreo se registraron para cada individuo las siguientes categorías comportamentales:

- interacciones sin contacto físico: retirada (R), retirada del piso (Rp) y amague topetazo (At)
- interacciones con contacto físico: empujón cabeza-cuerpo (Eccu), empujón cabeza-cabeza (Ecca), topetazo no recíproco (Tnr) y topetazo recíproco (Tr)

Las categorías comportamentales registradas se basaron en etograma realizado por Andersen et al. (2008) y Jørgensen et al. (2006), con modificaciones.

### *3.7. Análisis estadístico*

El cortisol, todas las variables hematológicas, el peso, la temperatura rectal, la circunferencia escrotal, la testosterona, las características seminales y las variables comportamentales, se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA, SAS, 2008) para medidas repetidas, considerando como efectos principales el grupo, el tiempo, y la interacción entre grupo y los tiempos. Todas las variables seminales fueron transformadas a su raíz cuadrada previo al análisis estadístico de forma de lograr una distribución normal de los datos.

Los datos se expresan como el valor de la media  $\pm$  EE. Se consideró significativo un  $P < 0,05$  y una tendencia estadística  $0,05 \leq P < 0,1$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Respuesta de estrés

#### 4.1.1. Cortisol

No se observaron diferencias en la concentración de cortisol entre GI y GR luego del agrupamiento pero se observó una interacción entre grupo y tiempo ( $P < 0,0001$ ). En el momento del agrupamiento la concentración de cortisol fue mayor en GI que en GR ( $P < 0,0001$ ), pero a partir de los 30 y hasta los 300 min la concentración de cortisol fue mayor en GR ( $P = 0,006$ ). En GI la concentración de cortisol se incrementó desde el tiempo -60 hasta los 30 min ( $P < 0,0001$ ), momento a partir del cual permaneció constante hasta los 300 min. En GR la concentración de cortisol en la hora 0 y a los -60 min no mostró diferencias, y a partir de los 30 min permaneció alta y constante hasta los 300 min ( $P < 0,0001$ ) (Figura 3).

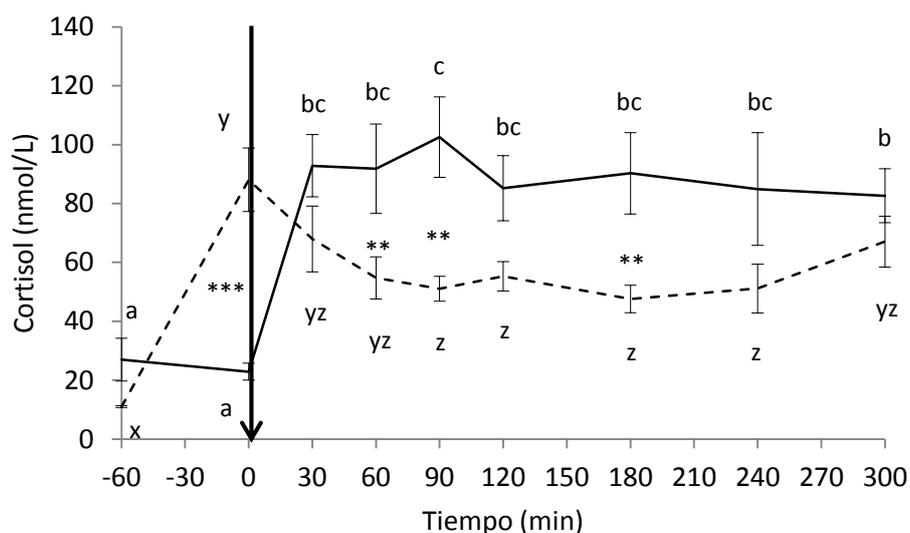


Figura 3. Concentración de cortisol (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR,  $n=8$ ) y la discontinua al grupo introducido (GI,  $n=9$ ). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \*\* ( $P < 0,01$ ) y \*\*\* ( $P < 0,001$ ).

#### 4.1.2. Parámetros hematológicos

##### Hematocrito

El porcentaje de hematocrito se modificó en el tiempo ( $P < 0,0001$ ) y hubo una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,003$ ): en GR no se observaron diferencias en el porcentaje de hematocrito a lo largo del tiempo, mientras que en GI los valores aumentaron (Figura 4).

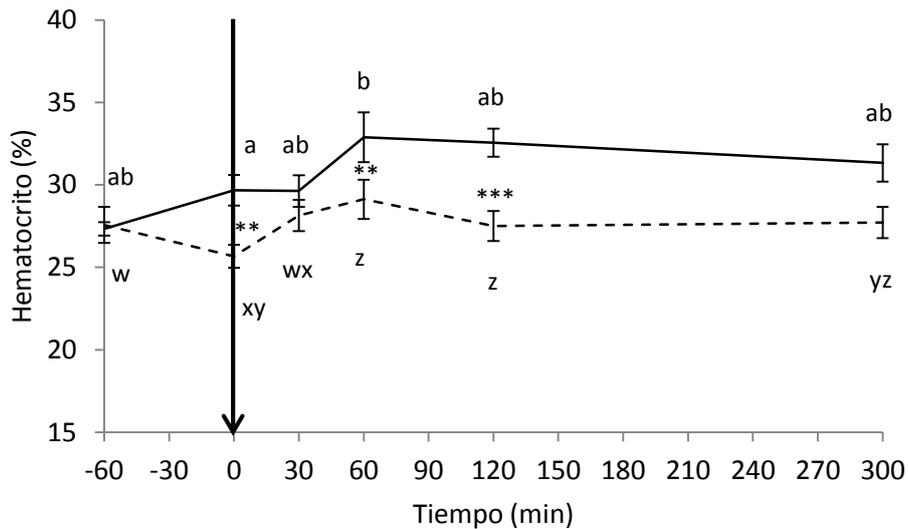


Figura 4. Porcentaje de hematocrito (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR,  $n=8$ ) y la discontinua al grupo introducido (GI,  $n=9$ ). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \* ( $P < 0,5$ ), \*\* ( $P < 0,01$ ) y \*\*\* ( $P < 0,001$ ).

##### Glucemia

No se encontraron diferencias entre grupos en la concentración de glucosa durante el día 0. Se observó una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,0006$ ): mientras que se mantuvo constante en GR, en GI aumentó desde los -60 min hasta los 30 min ( $P < 0,0001$ ), luego disminuyó a los 120 min ( $P = 0,003$ ), y a los 300 min su valor no fue diferente al inicial (Figura 5).

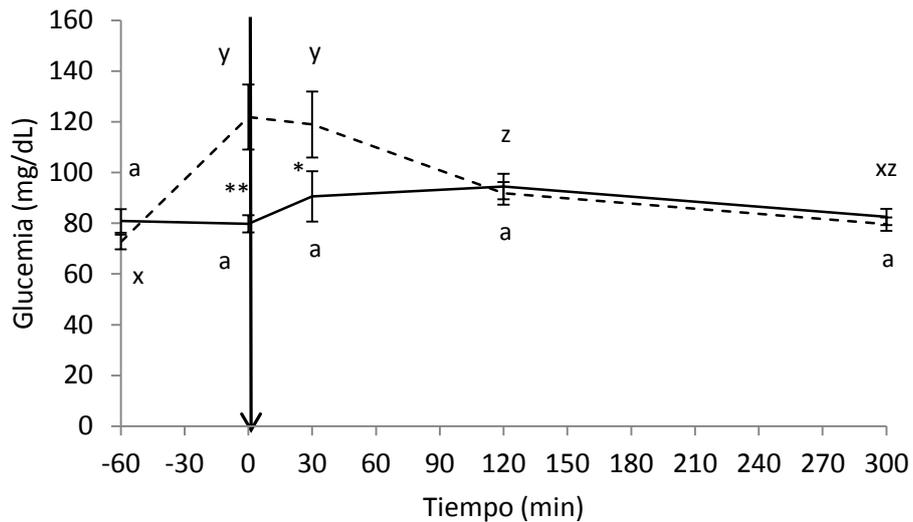


Figura 5. Glucemia (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR, n=8) y la discontinua al grupo introducido (GI, n=9). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \* ( $P < 0,05$ ) y \*\* ( $P < 0,01$ ).

### Proteínas totales

Durante el día 0 y durante los días restantes, no se observaron diferencias entre grupos para la concentración de proteínas totales, por lo que los datos se presentan juntos. La concentración de proteínas totales aumentó durante el día 0 ( $P = 0,005$ ). Desde los -60 hasta los 120 min la concentración de proteínas totales permaneció constante, y aumentó a los 300 min ( $P = 0,05$ ) (Figura 6). Durante los días restantes la concentración promedio de proteínas totales fue de  $7,1 \pm 0,1$  mg/dL y tendió a aumentar en el tiempo.

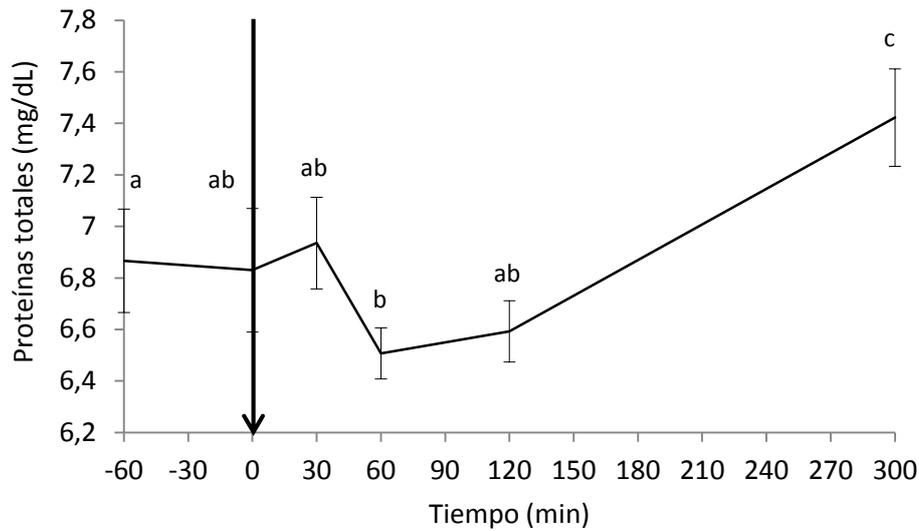


Figura 6. Concentración de proteínas totales (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen (n=17). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos ( $P < 0,05$ ).

### CK

La concentración de CK se modificó en el tiempo ( $P = 0,005$ ) y tendió a ser mayor en GR que en GI. Se observó una interacción entre grupo y tiempo: en GI permaneció constante mientras que en GR aumentó a los 300 min (Figura 7).

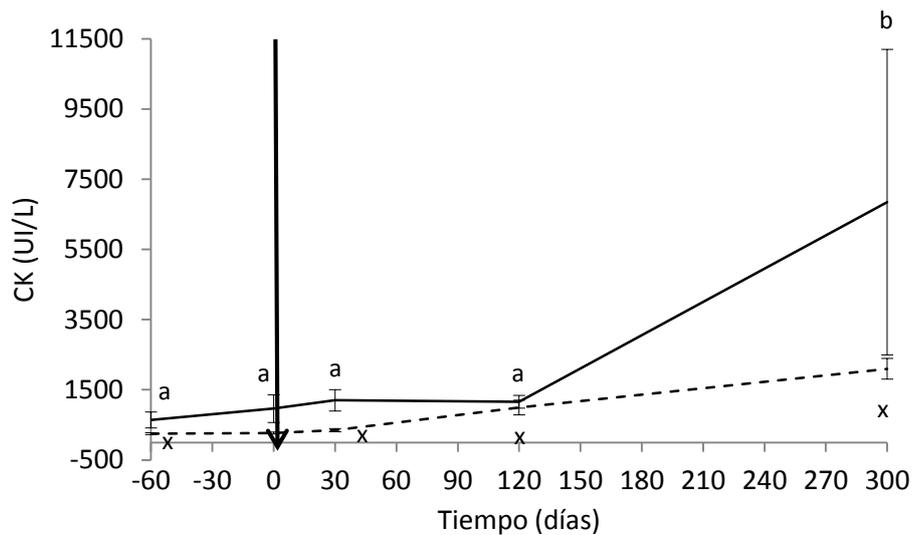


Figura 7. Concentración de creatinquinasa (CK) (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR, n=8) y la discontinua al grupo introducido (GI, n=9). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ).

## Albúmina

Durante el día 0, la concentración de albúmina varió entre grupos, siendo mayor para el GR ( $P= 0,004$ ). Hubo una interacción entre grupo y tiempo ( $P= 0,0008$ ). En GR, la concentración de albúmina aumentó en el momento del agrupamiento, pero a partir de los 30 y hasta los 300 min no se observaron diferencias con el valor inicial. En GI, se mantuvo constante hasta los 30 min y aumentó a los 60 y a los 90 min, pero luego el valor no fue diferente al inicial (Figura 8). En los días restantes, la concentración de albúmina permaneció constante y fue mayor en GR que en GI ( $3,46 \pm 0,25$  vs  $3,05 \pm 0,16$  mg/dL, respectivamente,  $P= 0,05$ ).

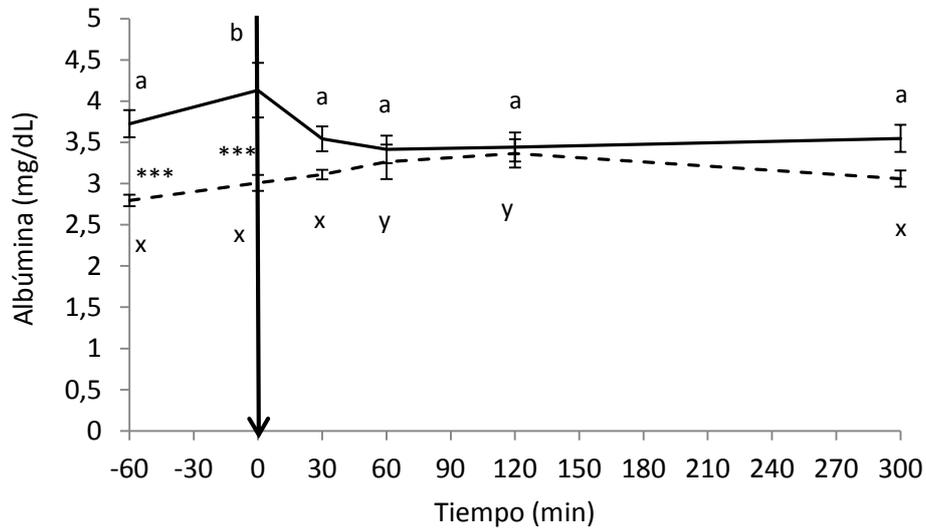


Figura 8. Concentración de albúmina (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR,  $n=8$ ) y la discontinua al grupo introducido (GI,  $n=9$ ). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \*\*\* ( $P < 0,001$ ).

#### 4.2. Peso corporal

El peso corporal cambió en el tiempo ( $P < 0,0001$ ). No se encontraron diferencias entre grupos en el peso corporal. Se observó una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,008$ ). En GR el peso corporal más bajo se observó en los días 2, 5, 8 y 13, y a partir del día 22 no se fue diferente al inicial. En GI el peso corporal más bajo se observó en los días 2, 5 y 8, y a partir del día 13 no se observaron diferencias con el valor inicial (Figura 9).

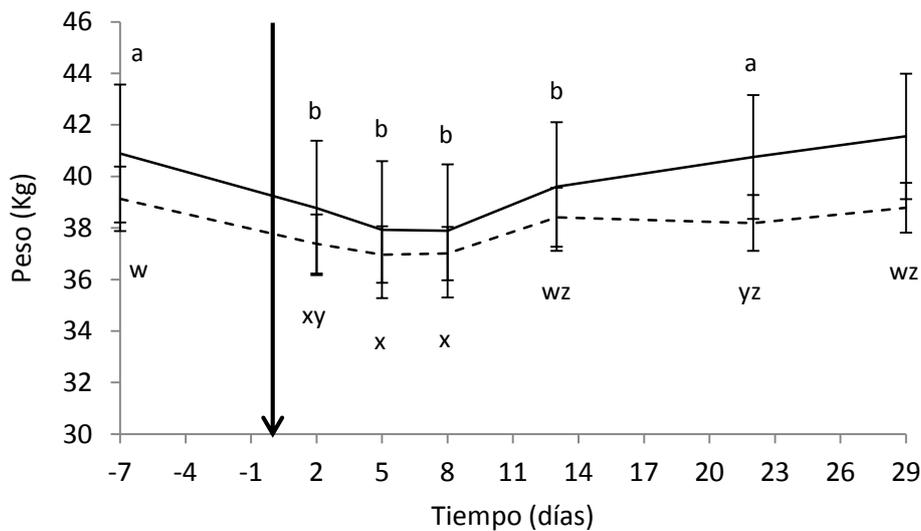


Figura 9. Peso corporal (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR,  $n=8$ ) y la discontinua al grupo introducido (GI,  $n=9$ ). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ).

#### 4.3. Temperatura rectal

Durante el día 0, la temperatura rectal aumentó ( $P < 0,0001$ ), y fue mayor para GI que para GR ( $39,7 \pm 0,2$  °C vs  $39,6 \pm 0,2$ , respectivamente,  $P = 0,02$ ). Se observó una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,02$ ). En GR la temperatura rectal aumentó a partir de los 30 min y se mantuvo alta hasta los 300 min mientras que, en GI, aumentó a partir de los 60 min y se mantuvo alta hasta los 300 min (Figura 10). Durante el resto de los días, la temperatura rectal permaneció alta, entre  $38,5 \pm 0,09$  y  $39,2 \pm 0,12$  °C ( $P < 0,0001$ ) y no fue diferente entre grupos.

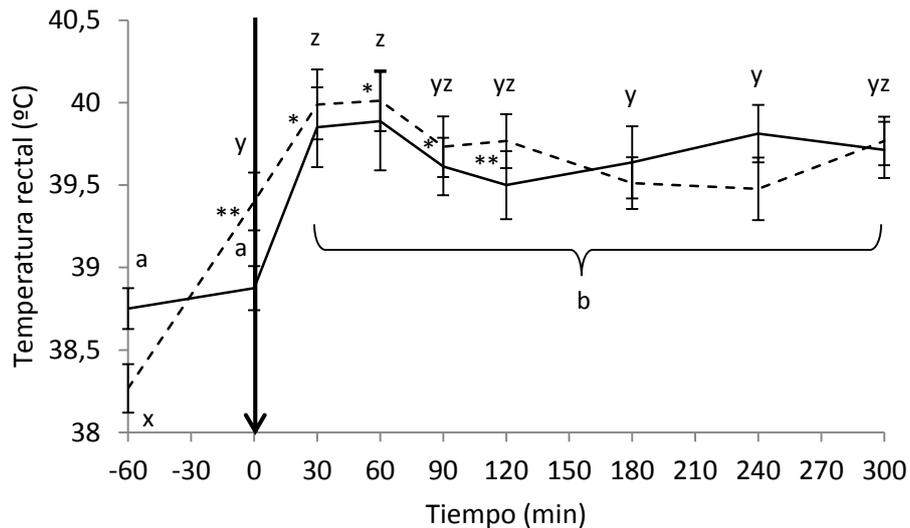


Figura 10. Temperatura rectal (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR, n=8) y la discontinua al grupo introducido (GI, n=9). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \* ( $P < 0,05$ ) y \*\* ( $P < 0,01$ ).

#### 4.4. Parámetros reproductivos

##### 4.4.1. Testosterona

La concentración de testosterona no mostró diferencias entre grupos. En el día 0 no se observaron cambios en la concentración de testosterona desde los -60 min hasta la hora 0, momento a partir del cual aumentó ( $P < 0,0001$ ), y hubo una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,001$ ). La concentración de testosterona en la hora 0 y a los 30 min fue mayor en GR que en GI ( $P = 0,02$  y  $P = 0,01$ , respectivamente). En GR a partir de los 120 min y hasta los 300 min no se observaron diferencias con el valor de la hora 0. En GI aumentó a los 30 min ( $P < 0,0001$ ) y permaneció elevada hasta los 300 min ( $P < 0,0001$ ) (Figura 11A). Durante los días restantes, la concentración de testosterona se presenta como el promedio diario de las muestras obtenidas en la mañana y en la tarde. Se observó efecto del tiempo ( $P < 0,0001$ ), la concentración de testosterona fue menor en los días 1, 3, 8, 12 y 13 luego del agrupamiento. Se observó una interacción entre grupo y tiempo ( $P = 0,02$ ). En GR la concentración de testosterona en el día 1 no fue diferente a la del día 0 mientras que en GI fue menor ( $P < 0,0001$ ). En el día 19 la

concentración de testosterona no fue diferente a la inicial en GR pero en GI fue menor ( $P < 0,0001$ ) (Figura 11B).

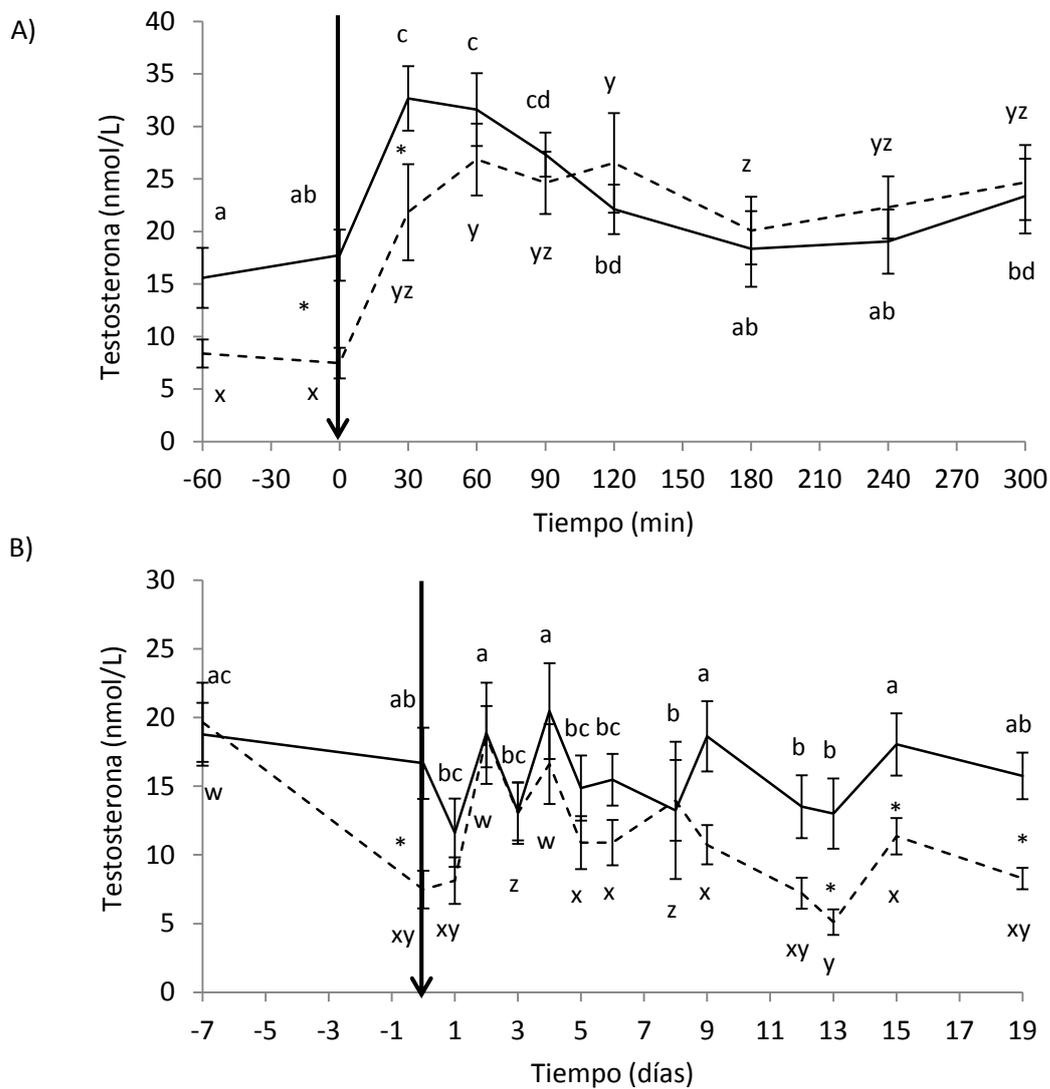


Figura 11. Concentración de testosterona (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. La línea continua indica al grupo residente (GR, n=8) y la discontinua al grupo introducido (GI, n=9). La flecha indica el momento inmediatamente antes del agrupamiento (A: hora 0; B: día 0). Diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). Diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \* ( $P < 0,05$ ) y \*\* ( $P < 0,01$ ).

#### 4.4.2. Características seminales

##### Concentración espermática

No se observaron diferencias en la concentración espermática entre grupos, por lo que los datos se presentan juntos. La menor concentración espermática se observó en los días 5, 13 y 22, y en el día 29 no fue diferente a la inicial ( $P = 0,003$ ) (Figura 12A).

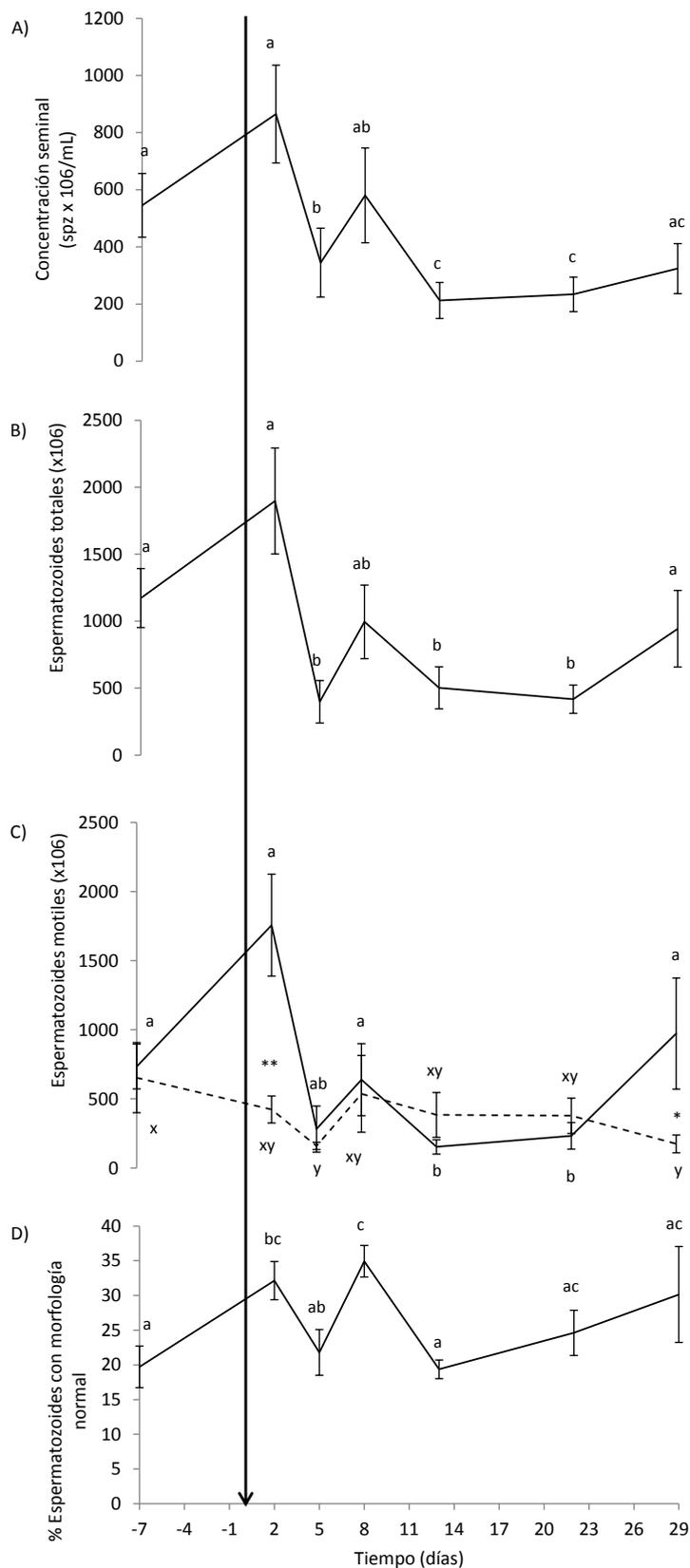


Figura 12. Características seminales (media  $\pm$  EE) antes y después del agrupamiento de chivos de distinto origen. En A), B) y D) los datos para ambos grupos se muestran agrupados (n=17). En C) la línea continua indica al grupo residente (GR, n=8) y la discontinua al grupo introducido (GI, n=9). La flecha indica la hora 0: momento inmediatamente antes del agrupamiento. En A), B) y D) diferentes letras indican diferencias significativas entre tiempos para cada grupo ( $P < 0,05$ ). En C) diferencias significativas entre los grupos para los tiempos se indican como \* ( $P < 0,05$ ) y \*\* ( $P < 0,01$ ).

#### *Cantidad total de espermatozoides*

No se observaron diferencias entre grupos en la cantidad total de espermatozoides, por lo que los datos se presentan juntos. La menor cantidad total de espermatozoides se observó entre los días 5, 13 y 22 ( $P= 0,004$ ); en el día 29 no se observaron diferencias con el valor inicial (Figura 12B).

#### *Motilidad de masa*

No se encontraron diferencias en la motilidad de masa entre grupos ni se observó interacción entre grupo y tiempo. La motilidad de masa tendió a disminuir en el día 5 y en el resto de los días no mostró diferencias con la motilidad inicial.

#### *Cantidad de espermatozoides motiles*

La cantidad de espermatozoides motiles tendió a ser mayor para el GR que para el GI. Hubo efecto del tiempo ( $P= 0,003$ ) e interacción entre grupo y tiempo ( $P= 0,05$ ). En el día 2, la cantidad de espermatozoides motiles fue mayor en GR que en GI ( $P= 0,02$ ). La menor cantidad de espermatozoides motiles se observó en los días 5, 13 y 22 en GR y en el día 5 y 29 en GI (Figura 12C).

#### *Porcentaje de espermatozoides con morfología normal*

El porcentaje de espermatozoides con morfología normal no mostró diferencias entre grupos, por lo que los datos se presentan juntos. En los días 2 y 8 se observó el porcentaje más alto de espermatozoides con morfología normal ( $P= 0,04$ ) y en el día 5 y a partir del día 12 el valor no fue diferente al inicial (Figura 12D).

#### *4.5. Comportamiento agonista*

Durante todo el experimento, los chivos del GI tendieron a realizar mayor cantidad de interacciones agonistas que los del GR ( $6,9 \pm 2,4$  vs  $1,9 \pm 0,7$ , respectivamente).

La cantidad de interacciones agonistas totales (datos de GR y GI agrupados) fue mayor en el día 1 que en el resto de los días ( $P= 0,002$ ), a excepción de los días 6, 15 y 28, en los que la cantidad de interacciones agonistas registradas no fue diferente a la del día

1. La cantidad de interacciones agonistas sin contacto físico (R, Rp y At) en los días 1 y 28 no mostró diferencias y tendió a ser mayor en el día 12. Las interacciones agonistas que incluyeron contacto físico (Eccu, Eccu, Tnr y Tr) disminuyeron en el tiempo ( $2,0 \pm 0,5$  vs  $0,2 \pm 0,1$ , día 1 y día 28, respectivamente,  $P= 0,0002$ ).

## 5. DISCUSIÓN

Agrupar chivos de distinto origen generó una respuesta de estrés, que fue diferente entre los animales introducidos y los residentes. Luego del agrupamiento de los chivos se produjeron cambios en las variables que indican una respuesta de estrés (concentración de cortisol y parámetros hematológicos), en el peso corporal y en la temperatura rectal. El aumento de la concentración de cortisol bajo condiciones de estrés ha sido ampliamente reportado en chivos (Kannan et al., 2000; 2003). El aumento de cortisol en la hora 0 en GI es consecuencia del transporte, lo que determinó que al momento de juntar los grupos éste ya tuviera una respuesta de estrés desencadenada. De todas formas, es interesante destacar que a pesar de que los animales del GI fueron transportados antes del agrupamiento, su respuesta en la concentración de cortisol luego del mismo no fue diferente a la del GR. Es posible que agrupar animales de distinto origen represente un evento estresante de tal magnitud que determinó una respuesta en la concentración de cortisol similar en ambos grupos, incluso a pesar de que uno de ellos fue sometido previamente al estrés de transporte.

En GR, la concentración de cortisol a los -60 min y en la hora 0 no fue diferente, por lo que puede afirmarse que los animales estaban acostumbrados al manejo de rutina en el que son manipulados para las extracciones de sangre a pesar de que el manejo que implica la obtención de muestras sanguíneas es considerado un estresor (Grandin, 1997). La respuesta de estrés a distintos manejos depende de la experiencia previa de los individuos (Dantzer y Mormède, 1983), y se conoce que los animales son capaces de habituarse al mismo (Crookshank et al., 1979). Además de los cambios en la concentración de cortisol, el peso corporal disminuyó, y la temperatura rectal y la concentración de CK aumentaron. Estos cambios pueden explicarse por el aumento de la actividad física debido al aumento de la actividad agonista (Berg y Haralam, 1987; Baldi et al., 1989; Leek et al., 2004). Por otro lado, los animales estarían empleando tiempo destinado a la alimentación en establecer su posición jerárquica, lo que llevaría a la disminución del peso corporal (Tamashiro et al., 2007). Además, podría estar ocurriendo una mayor movilización de reservas y una alta demanda metabólica que puede llevar a una disminución de las reservas de energía (Moberg, 2000). La glucemia aumentó en los animales introducidos, lo que evidencia que hubo movilización de las

reservas energéticas (Sapolsky et al., 2000), además de ser una respuesta directa al aumento de la concentración de cortisol (Al-Qarawi y Ali, 2005). Durante el día 0, la concentración de proteínas totales aumentó en ambos grupos y la concentración de albúmina aumentó en los animales residentes. Estos resultados son contradictorios con otros trabajos que demuestran una disminución en la concentración de proteínas totales y de albúmina bajo situaciones de estrés (Apple et al., 1993). Sin embargo, el aumento en la concentración de albúmina, así como el aumento en la concentración de proteínas totales y del porcentaje de hematocrito puede deberse a la hemoconcentración. La hemoconcentración puede ser causada por deshidratación (Zimmerman et al., 2011), ya que es posible que los animales, luego del agrupamiento hubiesen invertido el tiempo que debían invertir en beber agua, a realizar interacciones agonistas para la estabilización de la jerarquía social.

Luego del agrupamiento se observó una alta cantidad de interacciones agonistas. La disrupción de la organización social que ocurre en respuesta al agrupamiento y el aumento de la densidad de individuos lleva al incremento de la agresividad (Anderesen et al., 2008; Estevez et al., 2007). Los chivos introducidos realizaron mayor cantidad de interacciones agonistas que los residentes. El comportamiento agonista sería una forma de enfrentar las nuevas condiciones ambientales a las que fueron sometidos los chivos introducidos (Baldi et al., 1989). La alta cantidad inicial de las interacciones agonistas podría explicarse porque las mismas funcionarían como mediadores en la resolución de conflictos (Keil y Sambraus, 1998). Las interacciones agonistas con contacto físico se observaron en mayor cantidad durante las etapas iniciales del agrupamiento, pero disminuyeron en el transcurso del tiempo. Luego de repetidos encuentros agonistas, el resultado de éstos actúa como refuerzo psicológico, positivo o negativo, sobre la conducta de los individuos (Kondo y Hurnik, 1990). La experiencia de los individuos, junto con el refuerzo psicológico dado por los sucesivos resultados, determina que las interacciones agonistas con contacto físico sean menos necesarias para la resolución de conflictos y disminuyan con el tiempo (Kondo y Hurnik, 1990). El comportamiento agresivo es influenciado en forma directa por la testosterona (Hardy et al., 2002; Ruiz de la Torre y Manteca, 1999). Sin embargo, en este trabajo, se observó una alta frecuencia de comportamientos agresivos (los que involucraron

contacto físico) pese a que hubo un descenso en la concentración de testosterona. Esto puede ser explicado porque la testosterona se relaciona con el comportamiento agresivo cuando el mismo se asocia a la reproducción (por ejemplo durante la adquisición de pareja sexual), más que cuando se asocia a otros fines (por ejemplo durante la defensa de un territorio) (Wingfield, 2006). Luego del agrupamiento de animales de distinto origen se ha observado que la testosterona influye sobre el comportamiento de los individuos motivando a los mismos a establecer las nuevas relaciones de dominancia en la jerarquía social del grupo, más que a los enfrentamientos agresivos en sí mismos (Ruiz de la Torre y Manteca, 1999).

El agrupamiento de los chivos afectó negativamente la concentración de testosterona y la calidad seminal. El estrés puede alterar la función reproductiva a través de mecanismos que modifican la síntesis o la secreción de GnRH o la sensibilidad de las células hipofisarias a la acción de la GnRH (Tilbrook et al., 2000). Por otro lado, los glucocorticoides disminuyen la liberación de GnRH y de LH, reducen la respuesta gonadal a la LH y la concentración de receptores testiculares de LH (Sapolsky et al., 2000). Sin embargo, la concentración de testosterona aumentó significativamente en el día 0 en ambos grupos. Este resultado concuerda con trabajos que han demostrado en otras especies que durante las etapas iniciales de la respuesta de estrés la concentración de testosterona aumenta (Chichinadze y Chichinadze, 2008; Liptrap y Raeside, 1978). El aumento de la concentración de testosterona durante el día 0 puede explicarse también por el aumento de la concentración de cortisol. Liptrap y Raeside (1978) propusieron que al someter a cerdos a situaciones de agresión o a la administración de ACTH, se producen aumentos en la concentración de cortisol que generan aumentos transitorios en la concentración de testosterona.

Por otra parte, se observó una disminución significativa en la producción y calidad de semen luego del agrupamiento. Este efecto se evidenció por la disminución en ambos grupos de: la concentración espermática, la cantidad total de espermatozoides y la cantidad de espermatozoides motiles. Una alta concentración de testosterona se asocia con semen de buena calidad (Delgadillo et al., 1999; Haigh et al., 1984; Sundqvist et al., 1984), por lo que en este trabajo la disminución en la calidad seminal podría asociarse con la disminución de la concentración de testosterona. Se ha

demostrado que el estrés provoca disminución de la concentración de testosterona (Rose et al., 1969) y afecta negativamente la calidad seminal (Clarke et al., 1999; Fenster et al., 1997). En chivos se observaron efectos del agrupamiento de animales de distinto rango social sobre la calidad del semen. Cuando chivos de rango social medio fueron agrupados con chivos de rango social bajo se observó una disminución significativa del porcentaje de espermatozoides vivos en ambos grupos. Cuando chivos de rango social medio fueron agrupados con chivos de rango social alto, en los primeros aumentó el porcentaje de espermatozoides anormales (Ortiz de Montellano, 2004). En un estudio realizado en atletas, los hombres más estresados presentaron las menores concentraciones de testosterona y una severa oligospermia (Ayers et al., 1985). En primates, bajo situaciones de estrés crónico, el volumen y la concentración espermática disminuyeron significativamente, al igual que la cantidad total de espermatozoides y la cantidad de espermatozoides normales y motiles (Cui, 1996). En síntesis, al igual que en otras situaciones de estrés, el estrés social también afecta negativamente la mayor parte de los parámetros seminales, pudiendo entonces llevar a problemas en la capacidad de fertilizar.

## 6. CONCLUSIONES

- Agrupar chivos de diferente origen generó una respuesta de estrés en ambos grupos que se manifestó en el aumento de la concentración de cortisol, en cambios en los parámetros hematológicos considerados, en la disminución del peso corporal y en el aumento de la temperatura rectal.
- El agrupamiento afectó negativamente la reproducción en ambos grupos, a través de la disminución de la concentración de testosterona y de la calidad seminal.
- La concentración de testosterona disminuyó en mayor medida en los chivos introducidos que en los residentes, sin embargo, las características seminales (excepto la cantidad de espermatozoides motiles) disminuyeron de igual forma en ambos grupos luego del agrupamiento.
- Las diferencias en la respuesta al agrupamiento entre los chivos introducidos y los residentes son poco claras, ya que en cada uno de ellos se observaron cambios en distintos indicadores de estrés.
- Los chivos introducidos realizaron mayor cantidad de interacciones agonistas que los residentes durante todo el experimento.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Addison, W. E., Baker, E. 1982. Agonistic behavior and social organization in a herd of goats as affected by the introduction of non-members. *App Anim Ethol*, 8: 527-535.
2. Al-Qarawi, A. A., Ali, B. H. 2005. Isolation stress in desert sheep and goats and influence of pretreatment with xylazine or sodium betaine. *Vet Res Commun*, 29: 81-90.
3. Álvarez, L. 2008. Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. *Arch Zootec*, 57: 39-59.
4. Andersen, I. L., Bøe, K. E. 2007. Resting pattern and social interactions in goats-the impact of size and organization of lying space. *App Anim Bahav Sci*, 108: 89-103.
5. Andersen, I. L., Roussel, S., Ropstad, E., Braastad, B. O., Steinheim, G., Janczak, A. M., Jørgensen, G. M., Bøe, K. E. 2008. Social instability increases aggression in groups of dairy goats, but with minor consequences for the goats' growth, kid production and development. *App Anim Behav Sci*, 114: 132-148.
6. Apple, J. K., Minton, J. E., Parsons, K. M., Unruh, J. A. 1993. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretions, electrolytes, and other blood constituents of sheep. *J Anim Sci*, 71: 71-77.
7. Arthington, J. D., Eicher, S. D., Kunkle, W. E., Martin, F. G. 2003. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J Anim Sci*, 81: 1120-1125.
8. Ayers, J. W., Komesu, Y., Romani, T., Ansbacher, R. 1985. Anthropomorphic, hormonal, and psychologic correlates of semen quality in endurance-trained male athletes. *Fertil Steril*, 43: 917-21.
9. Baldi, A., Verga, M., Maffii, M., Canali, E., Chiaraviglio, D., Ferrari, C. 1989. Effects of blood sampling procedures, grouping and adrenal stimulation on stress responses in the growing pig. *Reprod Nutr Develop*, 29: 95-103.
10. Bambino T. H., Hsueh, A. J. W. 1981. Direct inhibitory effect of glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in vivo and in vitro. *Endocrinology*, 108: 2142-2148.

11. Barash, D. P. 1977. Sociobiology and behavior. New York, Elsevier. 378 Pp.
12. Berg, A., Haralambie, G. 1978. Changes in serum creatine kinase and hexose phosphate isomerase activity with exercise duration. *European J Appl Physiol*, 39: 191-201.
13. Bernstein, I. S., Gordon, T. P. 1974. The function of aggression in primate societies. *Am Sci*, 62: 304-311.
14. Bøe, K. E., Færevik, G. 2003. Grouping and social preferences in calves, heifers and cows. *App Anim Behav Sci*, 80: 175-190.
15. Chemineau, P., Delgadillo, J. A. 1993. Neuroendocrinología de la reproducción en el caprino. *Revista científica*, 3: 113-121.
16. Chichinadze, K., Chichinadze, N. 2008. Stress-induced increase of testosterone: Contributions of social status and sympathetic reactivity. *Physiol Behav*, 94: 595-603.
17. Clarke, R. N., Klock, S. C., Geoghegan, A., Travassos, D. E. 1999. Relationship between psychological stress and semen quality among in-vitro fertilization patients. *Hum Reprod*, 14: 753-758.
18. Crookshank, H. R., Elissalde, M. H., White, R. G., Clanton, D. C., Smalley, H. E. 1979. Effect of transportation and handling of calves upon blood serum composition. *J Anim Sci*, 48: 430-435.
19. Cui, K. 1996. The effect of stress on semen reduction in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Hum Reprod*, 11: 568-573.
20. Dantzer, R., Mórmede, P. 1983. Stress in farm animals: a need for reevaluation. *J Anim Sci*, 57: 6-18.
21. Delgadillo, J. A., Canedo, G. A., Chemineau, P., Guillaume, D., Malpoux, B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male créole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology*, 52: 727-737.
22. DeVries, A. C., Glasper, E. R., Detillion, C. E. 2003. Social modulation of stress responses. *Physiol Behav*, 79: 399-407.
23. Dickson, W. M. 1999. Endocrinología, reproducción y lactación. En: Swenson, M. J., Reece, W. O. *Fisiología de los animales domésticos de Dukes*. México, D. F. Limusa. 629-664 Pp.

24. Dobson, H., Smith, R. F. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction? *Anim Reprod Sci*, 60-61:743-752.
25. Dobson, H., Guy, C., Denham, E., Singh, I., Smith, R. F. 2000. Stress and reproduction in small ruminants. *Reprod Small Rum*, 39-43.
26. Dunn, A. J. 2000. Cytokine activation of the HPA axis. *Ann N Y Acad Sci*, 917: 608-617.
27. Estevez, I., Andersen, I. L., Nævdal, E. 2007. Group size, density and social dynamics in farm animals. *Appl Anim Behav Sci*, 103: 185-204.
28. Fenster, L., Katz, D. F., Wyrobek, A. J., Pieper, C., Rempel, D. M., Oman, D., Swan, S. H. 1997. Effects of Psychological Stress on Human Semen Quality. *J Androl*, 18: 194-202.
29. Ferin, M. 2006. Stress and the reproductive cycle. En: Neill, J. D. Knobil and Neill's physiology of reproduction. 3<sup>o</sup> Ed. London, Elsevier. 2627-2696 Pp.
30. Fuquay, J. W., Moberg, G. P. 1983. Influence of the pituitary-adrenal axis on the induced release of luteinizing hormone in rams. *J Endocr*, 99: 151-155.
31. Geist, V. 1964. On the Rutting Behavior of the Mountain Goat. *J Mammal*, 45: 551-568.
32. Grandin, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. *J Anim Sci*, 75: 249-257.
33. Gupta, S., Earley, B., Ting, S. T. L., Crowe, M. A. 2005. Effect of repeated regrouping and relocation on the physiological, immunological, and hematological variables and performance of steers. *J Anim Sci*, 83: 1948-1958.
34. Guyton, A. C., Hall, J. E. 2006. *Tratado de fisiología médica*. 11<sup>o</sup> Ed., Madrid, Elsevier. 1115 Pp.
35. Haigh, J. C., Cates, W. F., Glover, G. J., Rawlings, N. C. 1984. Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapiti (*Cervus elaphus*). *J Reprod Fert*, 70: 413-418.
36. Hardy, M. P., Sottas, C. M., Ge, R., McKittrick, C. R., Tamashiro, K. L., McEwen, B. S., Haider, S. G., Markham, C. M., Blanchard, R. J., Blanchard, D. C., Sakai, R. 2002. Trends of reproductive hormones in males rats during psychosocial stress: role of glucocorticoid metabolism in behavioral dominance. *Biol Reprod*, 67: 1750-1755.

37. Heetkamp, M. J., Schrama, J. W., de Jong, L., Swinkels, J. W., Schouten, W. G., Bosch, M. W. 1995. Energy metabolism in young pigs as affected by mixing. *J Anim Sci*, 73: 3562-3569.
38. Heiblum, R., Arnon, E., Gvoryahu, G., Robinzon, B., and Snapir, N. 2000. Short-term stress increases testosterone secretion from testes in male domestic fowl. *Gen Comp Endocrinol*, 120: 55-66.
39. Jørgensen, G. H. M., Andersen, I. L., Bøe, K. E. 2006. Feed intake and social interactions in dairy goats - the effects of feeding space and type of roughage. *Appl Anim Behav Sci*, 107: 239-25.
40. Juniewicz, P. E., Johnson, B. H., Bolt, D. J. 1987. Effect of adrenal steroids on testosterone and luteinizing hormone secretion in the ram. *J Androl*, 30:190-196.
41. Kannan, G., Terrill, T. H., Kouakou, B., Gazal, O. S., Gelaye, S., Amoah, E. A., Samake, S. 2000. Transportation of goats: effects on physiological stress responses and live weight loss. *J Anim Sci*, 78: 1450-1457.
42. Kannan, G., Kouakou, B., Terrill, T. H., Gelaye, S. 2003. Endocrine, blood metabolite, and meat quality changes in goats as influenced by short-term, preslaughter stress. *J Anim Sci*, 81: 1499-1507.
43. Keil, N. M., Sambraus, H. H. 1998. Interveners" in agonistic interactions amongst domesticated goats. *Z Säugetierkunde*, 63: 266-272.
44. Keller-Wood, M. E., Dallman, M. F. 1984. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*, 5: 1-24.
45. Knowles, T. G. 1999. A review of the road transport of cattle. *Vet Rec*, 144: 197-201.
46. Kollack-Walker, S., Watson, S. J., Akil, H. 1997. Social stress in hamsters: defeat activates specific neurocircuits within the brain. *J Neurosci*, 17: 8842-8855.
47. Kondo, S., Hurnik, J. F. 1990. Stabilization of social hierarchy in dairy cows. *App Anim Behav Sci*, 27: 287-297.
48. Kushner, I., Mackiewicz, A. 1987. Acute phase proteins as disease markers. *Dis Markers*, 5: 1-11.
49. Leek, A. B. G., Sweeney, B. T., Duffy, P., Beattie, V. E., O'Doherty, J. V. 2004. The effect of stocking density and social regrouping stressors on growth performance,

- carcass characteristics, nutrient digestibility and physiological stress responses in pigs. *Anim Sci*, 79: 109-119.
50. Leshner, A. I. 1978. *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. New York, Oxford University Press. 361 Pp.
51. Leshner, A. I., Politch, J. A. 1979. Hormonal control of submissiveness in mice: irrelevance of the androgens and relevance of pituitary-adrenal hormones. *Physiol Behav*. 22: 531-534.
52. Li, X. F., Bowe, J. E., Kinsey-Jones, J. S., Brian, S. D., Lightman, S. L., O'Byrne, K. T. O. 2008. Differential role of corticotrophin-releasing factor receptor types 1 and 2 in stress induced suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in the female rat. *J Neuroendocrinol*, 18: 602-610.
53. Liptrap, R. M., Raeside, J. I. 1978. A relationship between plasma concentrations of testosterone and corticosteroids during sexual and aggressive behavior in the boar. *J Endocrinol*, 76: 75-85.
54. Mann, D. R., Evans, D. C., Jacobs, V. L., Collins D. C. 1986. Influence of acute intracerebroventricular (i.c.v.) administration of adrenocorticotrophin (ACTH) on LH secretion in male rats: effect of pretreatment (i.c.v.) with ACTH antiserum on the serum LH response to an acute ether stress. *J Endocrinol*, 108: 275-280.
55. Mateos, E. 1990. Avances en reproducción caprina. *Mundo ganadero*, 9: 41-51.
56. McEwen, B. S. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*, 886: 172– 89.
57. McKay, L. I., Cidlowski, J. A. 1999. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr Rev*, 20: 435-459.
58. Mench, J. A., Swanson, J. C., Stricklin, W. R. 1990. Social stress and dominance among group members after mixing beef cows. *Can J Anim Sci*, 70: 345-354.
59. Miranda de la Lama, G. C., Mattiello, S. 2010. The importance of social behaviour for goat welfare in livestock farming. *Small Ruminant Res*, 90: 1-10.
60. Moberg, G. P. 1991. How behavioral stress disrupts the endocrine control of reproduction in domestic animals. *J Dairy Sci*, 74: 304-311.

61. Moberg, G. P. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare. En: Moberg, G. P., Mench, J. A. (Eds.). The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. New York, Cabi Pub. 1-22 Pp.
62. Ortiz de Montellano, A. M. 2004. Evaluación de las interacciones sociales en el macho cabrio y su efecto sobre la secreción hormonal y la calidad espermática. Tesis de Doctorado, Universidad Autonoma de Yucatan, Merida, México. 179 Pp.
63. Patterson, S. M., Krantz, C. S., Gottdiener, J. S., Hecht, G., Vargot, S., Goldstein, D. S. 1995. Prothrombotic effects of environmental stress: changes in platelet Function, hematocrit, and total plasma protein. *Psychosom Med*, 57: 592-599.
64. Petersen, H. H., Nielsen, J. P., Heegaardb, H. P. M. 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res*, 35: 163-187.
65. Rivier, C., Vale, W. 1985. Effect of the long-term administration of corticotropin-releasing factor on the pituitary-adrenal and pituitary-gonadal axis in the male rat. *J Clin Invest*, 75: 882-886.
66. Rivier, C., Rivest, S. 1991. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol Reprod*, 45: 523-52.
67. Rose, R. M., Bourne, P. G., Poe, R. O., Mougey, E. H., Collins, D. R., Mason, J. W. 1969. Androgen response to stress. II. Excretion of testosterone, epitestosterone, androsterone and etiocholanolone during basic combat training and under threat of attack. *Psychosom Med*, 31: 418-436.
68. Ruiz de la Torre, J. L., Manteca, X. 1999. Effects of testosterone on aggressive behavior after social mixing in male lambs. *Physiol Behav*, 68: 109-113.
69. Sapolsky, R. 1983. Individual differences in cortisol secretory patterns in the wild baboon: role of negative feedback sensitivity. *Endocrinology*, 113: 2263-2281.
70. Sapolsky, R. M., Romero, L. M., Munck, A. U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*, 2: 55-89.
71. Shackleton, D. M., Shank, C. C. 1984. A review of the social behavior of feral and wild sheep and goats. *J Anim Sci*, 58: 500-509.
72. Stricklin, W. R., Graves, H. B., Wilson, L. L., Singh, R. K. 1980. Social organization among young beef cattle in confinement. *Appl Anim Ethol*. 6: 211- 219.

73. Sundqvist, C., Lukola, A., Valtonen, M. 1984. Relationship between serum testosterone concentrations and fertility in male mink (*Mustela vison*). *J Reprod Fert*, 70: 409-412.
74. Sutton, J. R., Coleman, M. J., Casey, J., Lazarus, L. 1973. Androgen responses during physical exercise. *Br Med J*, 1: 520-522.
75. Tamashiro, L. K. L., Nguyen, M. M. N., Sakai, R. R. 2005. Social stress: from rodents to primates. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26: 27-40.
76. Tamashiro, K. L. K., Hegeman, M. A., Nguyen, M. M. N., Melhorn, S. J., Ma, L. Y., Woods, S. C., Sakai, R. R. 2007. Dynamic body weight and body composition changes in response to subordination stress. *Physiol Behav*, 91: 440-448.
77. Tilbrook, A. J., Turner, A. I., Clarke, I. J. 2000. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. *Rev Reprod*, 5: 105-113.
78. Tölü, C., Savaş, T. 2007. A brief report on intra-species aggressive biting in a goat herd. *App Anim Behav Sci*, 102: 124-129.
79. Veissier, I. Boissy, A., de Passille, A. M., Rushen, J., van Reenen, C. G., Roussel, S., Andanson, S., Pradel, P. 2001. Calves' responses to repeated social regrouping and relocation. *J Anim Sci*, 79: 2580-2593.
80. Viau, V., Meaney, M. J. 1996. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic–pituitary–adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area. *J Neurosci*, 16: 1866-1876.
81. von Borrell, E. 2000. Stress and coping in farm animals. *Arch Tierz*, 43: 144-152.
82. Wingfield, J. C. 2006. Communicative behaviors, hormone–behavior interactions, and reproduction in vertebrates. En: Neill, J. D. Knobil and Neill's physiology of reproduction. 3<sup>o</sup> Ed. London, Elsevier. 1995-2040 Pp.
83. Wingfield, J. C., Sapolsky, R. M. 2003. Reproduction and resistance to stress: when and how. *J Neuroendocrinol*, 15: 711-724.
84. Zimmerman, M., Grigioni, G., Taddeo, H., Domingo, E. 2011. Physiological stress responses and meat quality traits of kids subjected to different pre-slaughter stressors. *Small Rumin Res*, 100: 137-142.