



MAESTRÍA EN BIOLOGÍA-OPCIÓN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PEDECIBA-Área Biología

Sub-área Ciencias Fisiológicas

Programa de Posgrados

Determinación de la jerarquía social en carneros y sus efectos sobre la reproducción

Lorena Lacuesta Gómez

TESIS DE MAESTRÍA EN BIOLOGÍA

URUGUAY

2011

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA-OPCIÓN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PEDECIBA

Programa de Posgrados

**Determinación de la jerarquía social en carneros y sus efectos sobre la
reproducción**

Lorena Lacuesta Gómez

Director de Tesis: Dr. Rodolfo Ungerfeld

2011

INTEGRACIÓN TRIBUNAL DE TESIS

DEFENSA DE TESIS

Alberto Cirio, MSc, PhD

**Departamento de Fisiología, Programa de Posgrados PEDECIBA y Facultad de
Veterinaria**

Montevideo, Uruguay

Presidente

Agustín Orihuela, MSc, PhD

**Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos
(UAEM)**

Cuernavaca, México

José Luis Repetto, PhD

**Departamento de Bovinos, Programa de Posgrados PEDECIBA y Facultad de
Veterinaria**

Montevideo, Uruguay

DEDICATORIA

“Por ahí se habla de los rebeldes sin causa; pero a mí me parece, cuando recuerdo, que era un rebelde por muchas causas, y agradezco a la vida haber seguido siendo rebelde, aún hoy, y tal vez con más razón, porque tengo más ideas, porque tengo más experiencias, porque he aprendido mucho de mi propia lucha, porque comprendo mucho mejor esta tierra en que nacimos y este mundo en que vivimos, hoy globalizado y en minutos decisivos de su destino.”

Fidel Castro Ruz

Discurso “Podemos construir la sociedad más justa del mundo”

17 de noviembre de 2005

Aula Magna de la Universidad de la Habana, La Habana, Cuba

A quienes marcaron lo que soy...

Para Ivonne Gómez y Manuel Lacuesta

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Ivonne Gómez. Porque está desde siempre en cada emprendimiento en mi vida. Por enseñarme que lo importante es ser feliz en cada camino recorrido.

A mi padre, Manuel Lacuesta. Por enseñarme a juntar cada piedra en el camino para construir un castillo al final del viaje.

A José Passarini, porque ha leído esta tesis tantas veces como fue necesario. Por ayudarme siempre en todo.

A mi tutor, Rodolfo Ungerfeld. Por enseñarme el camino de la investigación. Por mostrarme que se puede, aún con el viento en contra. Por haberme apoyado desde la distancia durante mi estancia en México, fue decisivo. Gracias por acompañar cada iniciativa, no solo en esta Maestría sino también en los proyectos que vinieron después. Por esas y otras razones...no hay dos sin tres...

A mi compañero de trabajo Milton Pintos, por el cuidado de los animales y por todas las jornadas de trabajo juntos.

A Laura Morena y Laura Nuñez, por participar en el trabajo de campo de los Experimentos I y III.

A Fernando Sánchez, trabajadores y estudiantes de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por permitirme realizar el Experimento II en su Universidad y por la colaboración, principalmente durante el Día 0.

A los integrantes del Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, por los aportes en la elaboración de esta tesis. A mis compañeros del Departamento de Fisiología, especialmente a Islamey Tebot.

Especialmente a Jorge Gil, por enseñarme sus conocimientos sobre la evaluación de semen en rumiantes.

A la CSIC por otorgarme una beca que me permitió realizar esta Maestría.

A mi familia, que siempre acompaña mis emprendimientos, mis aciertos y mis derrotas.

Muy especialmente a Marta Lacuesta, mi hermana del alma.

A mis hermanos Juan Manuel y Roque Lacuesta.

A mi prima Fabiana Modernell, por apoyarme cuando más necesité.

Especialmente a mi amigo, Maykel Galoso, por compartir este momento a pesar de los miles de kilómetros que nos separan.

A mis amigos, Solana y Matías, porque hemos recorrido este camino de la mano, en cada instancia, en cada aprendizaje, en las subidas y en las bajadas, pero siempre juntos.

A Juan Pablo Damián, por apoyarme siempre en lo que necesité, gracias por las sonrisas para el desestrés...

Especialmente a Fernando Fumagalli, por su compañerismo y por su colaboración con los animales experimentales.

A Julia Giriboni, mi compañera de trabajo, mi compañera de "libertad"...

A las amigas que la vida me regaló, Betty Brum, Yanet Ximenez, Gabriela Miguez de Soto y Lorena Chiminelli, por estar en los momentos difíciles, por alentarme a seguir siempre.

Especialmente a Javier Arece y Antonio Suset, por mostrarme la otra cara de la investigación.

A Leonardo de Sosa, porque a pesar de todo siempre estuvimos unidos.

A los profesores y amigos de salsa por sacarme de a ratos hacia un mundo distinto. Muy especialmente a Natalia Pochelu, porque el amor por el baile nos unió y luego descubrimos tener el mismo collar... Gracias por compartir tanto...

A Mary...nunca te voy a olvidar...

A todos los que creyeron en mí, y a los que no también... porque me dieron las fuerzas para contradecirlos.

A todos, MUCHAS GRACIAS.

PUBLICACIONES

Artículo científico (Publicación I):

Ungerfeld, R., Lacuesta, L., 2010. Social rank during pre-pubertal development and reproductive performance of adult rams. *Animal Reproduction Science*. 121, 101-105.

Resumen Congreso:

Lacuesta, L., Sánchez-Dávila, F., Ungerfeld, R. Changes in sexual behaviour in Saint Croix rams after joining with an unknown ram.

44th Congreso de ISAE (International Society of Applied Ethology), del 4-7 de agosto de 2010, Uppsala, Suecia. Pp 205.

LISTA DE ABREVIATURAS

IA:	Interacciones agonistas
CRF:	Factor liberador de corticotropina
ACTH:	Hormona adrenocorticotropina
GnRH:	Hormona liberadora de gonadotrofinas
LH:	Hormona luteinizante
ID:	Índice de Dominancia
11 β -HSD2:	11 β hidroxysteroides-deshidrogenasa 2
LPL:	Enzima lipoproteinlipasa
TAG:	Triacilglicéridos
AR:	Alto rango jerárquico prepuberal
BR:	Bajo rango jerárquico prepuberal
Spz:	Espermatozoides
ME:	Montas con eyaculación

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por alimento durante 5 minutos calculados de forma absoluta y relativa.....	41
Figura 2. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por una hembra en celo calculados de forma absoluta y relativa.....	42
Figura 3. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante la utilización de IA espontáneas calculados de forma absoluta y relativa.....	43
Figura 4. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por el alimento (valor absoluto) y A) valores de ID obtenidos por test de competencia por una hembra en celo (valor absoluto); B) valores de ID obtenidos mediante la utilización de IA espontáneas (valor absoluto).....	44
Figura 5. Peso corporal (media \pm EE) de carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	55
Figura 6. Concentración de cortisol (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	56
Figura 7. Concentración de testosterona (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	57
Figura 8. Parámetros hematológicos (media \pm EE) de carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	59
Figura 9. Comportamientos sexuales de cortejo (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	61
Figura 10. Comportamientos sexuales de monta (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados.....	63

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características seminales de carneros de 1,5 años según la posición jerárquica prepuberal.....	72
Tabla 2. Comportamiento sexual de carneros de 1,5 años según la posición jerárquica prepuberal.....	73
Tabla 3. Características seminales de carneros de 2,5 años según la posición jerárquica prepuberal.....	73
Tabla 4. Comportamiento sexual de carneros de 2,5 años según la posición jerárquica prepuberal.....	74

RESUMEN

Los objetivos de la presente Tesis fueron *a)* determinar si existen diferencias en el Índice de Dominancia Individual (ID) de los carneros de acuerdo a la metodología utilizada para su cálculo, y *b)* determinar si el establecimiento de la jerarquía social tanto en la etapa prepuberal como en la etapa adulta afecta el desempeño reproductivo en carneros adultos. Para ello se realizó un primer experimento (Experimento I) cuyos objetivos específicos fueron: *i)* determinar si existe una relación directa entre el ID determinado a partir de la competencia por alimento, por una hembra en celo o mediante interacciones agonistas (IA) espontáneas; y *ii)* determinar si la forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) en los 3 métodos, genera diferentes resultados en el ID. La forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) entre díadas que compiten por alimento, hembra en celo, o en forma espontánea proveyeron resultados similares en el ID. No se observó una correlación entre los ID calculados a partir de los tests de competencia por alimento (tomado como referencia) y las otras dos metodologías. Posteriormente se realizó el Experimento II cuyos objetivos específicos fueron: *i)* determinar si luego del establecimiento del vínculo de dominancia entre 2 carneros se producen cambios en la concentración de cortisol, en las principales variables hematológicas indicadoras de estrés, en la concentración de testosterona, y en el comportamiento reproductivo frente a una hembra en celo; y *ii)* determinar si dichos cambios difieren según la posición jerárquica de los carneros. Juntar dos carneros en forma súbita generó un estrés importante reflejado en un aumento de la concentración de cortisol, modificaciones en los principales parámetros hematológicos indicadores de estrés, y una disminución de la concentración de testosterona. Dichos cambios fueron similares en los carneros que resultaron dominantes o subordinados. Sin embargo, el establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación condujo a cambios en la actividad reproductiva en carneros en situaciones de no competencia, produciendo una disminución en algunos comportamientos sexuales de cortejo y un aumento en la cantidad de comportamientos sexuales de monta. La respuesta del comportamiento sexual no fue diferente según la posición jerárquica de los carneros. Finalmente en el Experimento III los objetivos específicos fueron: *i)* comparar el desempeño reproductivo de carneros adultos (producción de semen y comportamiento sexual) durante la estación reproductiva, según la posición jerárquica prepuberal. Los comportamientos sexuales de cortejo de carneros adultos se vincularon al rango social prepuberal. Los carneros de bajo rango social manifestaron mayor frecuencia de comportamientos de cortejo. Sin embargo, la producción seminal no se vinculó a la posición jerárquica prepuberal en carneros adultos. En síntesis, a partir de los resultados obtenidos en los 3 experimentos se concluyó que el ID calculado para cada carnero varió según la metodología utilizada, y que el establecimiento de la jerarquía social tanto en la etapa prepuberal como en la etapa adulta, produjo cambios en el comportamiento sexual de carneros adultos.

SUMMARY

The objectives of the present Thesis were to *a)* determine if Success Index (SI) was different in rams according to the methodology used to calculate it, and *b)* determine if social hierarchy establishment in pre-pubertal lambs and in adult rams affect the reproductive performance of adult rams. In Experiment I the objectives were to: *i)* determine if there is a link between the SI determined through food competition, competition for an estrual ewe, or by spontaneous agonistic behaviors and to *ii)* determine if the calculation procedure (absolute vs. relative) in the 3 methods, produces different results in the SI. The SI procedure calculation (absolute vs. relative) provided similar results in the SI determined by food competition, competition for an estrual ewe competition, or spontaneous agonistic behavior. There was no correlation between SI calculated from food competition tests (considered as the reference test), and the other two methodologies. In Experiment II the objectives were to: *i)* determine if the establishment of the dominance-subordinate relationship between two rams produce changes in cortisol, stress hematologic indicators, and testosterone concentration, and in sexual behaviour, and *ii)* determine if these changes differ according to rams' social position. After joining two rams there was an increase in cortisol concentration, changes in main stress hematologic indicators, and a decrease in testosterone concentration. These changes were similar in dominant and subordinate rams. The display of some courtship sexual behaviors decreased in non-competitive situations, but mount and mating behaviors increased. Changes in sexual behavior were similar in dominant and subordinate rams. Finally, in Experiment III the objectives were to: *i)* compare the reproductive sexual performance (semen production and sexual behaviour) of rams during the breeding season in relation to the social rank they had during development as lambs. Courtship sexual behaviour in adult rams was related to pre-pubertal social rank. Frequency of courtship behaviours was greater in rams that were low-ranked during their development. However, semen production was not related to pre-pubertal social rank in adult rams. We concluded that social hierarchy establishment in both pre-pubertal and adulthood, led to changes in the sexual behaviour of adult rams, and that the SI calculated in rams varied according to the methodology used.

INDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	5
Agradecimientos.....	6
Publicaciones.....	8
Lista de abreviaturas.....	9
Lista de Figuras.....	10
Lista de Tablas.....	11
Resumen.....	12
Summary.....	13
INTRODUCCIÓN.....	16
Organización social en rumiantes.....	16
La vida en grupos sociales: beneficios y costos.....	17
Efectos de la jerarquía sobre la producción en rumiantes.....	21
Efectos de la jerarquía sobre la reproducción en rumiantes.....	22
Estrés social en animales domésticos.....	23
Consecuencias fisiológicas del estrés social y rango jerárquico.....	25
Estrés social y reproducción en machos.....	28
HIPÓTESIS.....	30
OBJETIVOS GENERALES.....	31
ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN.....	32
EXPERIMENTO I. Métodos de determinación de jerarquía social en carneros.....	33
Introducción.....	33
Objetivos.....	37
Materiales y métodos.....	38

Resultados.....	41
Discusión.....	45
Conclusiones.....	48
EXPERIMENTO II. Efectos del establecimiento de la jerarquía sobre el estrés y el rendimiento reproductivo en carneros.....	49
Introducción.....	49
Objetivos.....	51
Materiales y métodos.....	52
Resultados.....	55
Discusión.....	64
Conclusiones.....	67
EXPERIMENTO III. Influencia de la jerarquía social durante el desarrollo prepuberal sobre la capacidad reproductiva de carneros adultos.....	68
Introducción.....	68
Objetivos.....	69
Materiales y métodos.....	70
Resultados.....	71
Discusión.....	75
Conclusiones.....	78
DISCUSIÓN GENERAL.....	79
CONCLUSIONES GENERALES.....	81
BIBLIOGRAFÍA.....	82
ANEXO.....	97

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Organización social en rumiantes

El sistema de rango social es una de las características más prominentes en grupos de animales, bajo cualquier tipo de organización social (Espmark, 1964). Los rumiantes domésticos se organizan en jerarquías sociales (ovinos: Fisher y Matthews, 2001; bovinos: Bouissou et al., 2001; caprinos: Miranda de la Lama, 2010). Una jerarquía social puede ser definida como un rango de individuos, en una unidad social, basada en mutuas relaciones de dominancia-subordinación (Hurnik et al., 1995). Desde el punto de vista del desarrollo genético, la habilidad de vivir en un contexto de jerarquía social es una característica adaptativa en lugares donde los animales son forzados a vivir en grupos (Hurnik et al., 1995). El sistema de jerarquía social proporciona determinadas ventajas a los animales dentro de un grupo, permitiendo que accedan de forma más organizada a los distintos recursos. Sin embargo, a pesar de que la organización en una jerarquía social permite la asignación de recursos, su distribución entre los integrantes del grupo no es igualitaria, dependiendo de la posición que ocupe cada individuo en esa unidad social (Craig, 1986). El término dominancia ha sido utilizado ampliamente para explicar el fenómeno dentro de una pareja de animales, donde el comportamiento de un individuo puede ser inhibido por el del otro (Kaufmann, 1983); mientras que el orden, rango o jerarquía social explica las complejas relaciones resultantes encontradas en un grupo de animales (Beilharz y Zeeb, 1982; Stricklin y Mench, 1987).

Durante la formación de la jerarquía, normalmente ocurren enfrentamientos físicos. A medida que transcurre el tiempo, las amenazas y huidas suplantando a las peleas, disminuyendo la manifestación física de la tensión social en el grupo y reduciendo las pérdidas debidas a gasto energético, injurias y mortalidad (Hurnik et al., 1995). Una vez establecida la jerarquía se reduce el nivel de agresión dentro del grupo (Beilharz y Zeeb, 1982) y puede quedar invariable por mucho tiempo (Hurnik et al., 1995). De acuerdo a la cantidad de veces que los individuos logran desplazar físicamente a sus oponentes o según la cantidad de individuos a los que logren dominar, cada animal alcanza una posición en el rango jerárquico. De acuerdo al orden en que se posicionan en el rango, quienes ocupan las posiciones superiores se considerarán de alto rango, mientras que los que ocupan las posiciones inferiores se considerarán de bajo rango. Cada grupo es único, un individuo con una posición jerárquica en un grupo podría tener una posición diferente en otro (Banks et al., 1979).

Los carneros domésticos presentan una jerarquía social muy intensa, similar a la observada en vida libre (Fisher y Matthews, 2001). En condiciones comerciales, los carneros son mantenidos en grupos pequeños de machos, por lo que la jerarquía tiende a ser de tipo lineal (Hurnik et al.,

1995). En la jerarquía lineal, un animal α es dominante sobre todos los animales, el β es dominante sobre todos los animales menos sobre el α , el animal ω es subordinado frente a todos (Hurnik et al., 1995; Strickin y Mench, 1987). Aquellos animales que han tenido una larga exposición a los enfrentamientos con otros individuos (animales más viejos), muestran un gran conocimiento de su posición en el rango jerárquico, y responden menos a cambios sociales del ambiente (Puppe et al., 2008). La frecuencia de enfrentamientos entre carneros aumenta al incrementar la cantidad de machos que se introduce a un grupo de ovejas (Fisher y Matthews, 2001). Esta interferencia que se genera entre los machos durante la actividad de monta, puede reducir la fertilidad de la majada (Craig, 1981). Estas características de la vida social en carneros repercuten tanto en la productividad, como en la eficiencia de la actividad reproductiva.

1.2. La vida en grupos sociales en animales domésticos: beneficios y costos

Los animales domésticos pertenecen a especies sociales, por lo que tienen una fuerte tendencia a formar grupos. Vivir en grupos sociales provee una serie de beneficios así como también de costos para los individuos que lo integran. Los beneficios incluyen la reducción en el riesgo de predación, principalmente en ambientes naturales, beneficios asociados a la facilitación social, termorregulación social (Andersen et al., 2000) y aumento en las oportunidades de aprendizaje, sobre todo vinculado a los comportamientos alimenticios de los compañeros del grupo (Estevez et al., 2007; Penning et al., 1993). A través de este aprendizaje social se favorece la localización del alimento y se estimula el comportamiento alimentario (Bailey et al., 2000). Otros beneficios de la vida en grupos incluyen la facilidad en el acceso potencial a una pareja reproductiva y el cuidado exitoso de las crías (Estevez et al., 2007). Estas ventajas que proporciona la vida en grupos sociales, pueden mejorar el bienestar de los individuos del grupo. Esta mejora está representada por el mayor tiempo disponible para alimentarse, mayor probabilidad de acceso a individuos del sexo opuesto, y mayor tasa de supervivencia (Estevez et al., 2007). Por lo tanto, si bien el manejo de cría individual en sistemas de producción previene que los animales tengan contacto físico con otros individuos de su misma especie, también es una limitante para el desarrollo social que se produce durante la vida en grupos (Bøe y Færevik, 2003).

Sin embargo, la vida en grupos sociales presenta costos para los individuos que lo integran. Dichos costos están representados por la competencia por los distintos recursos, principalmente cuando los mismos son escasos (Estevez et al., 2007). Estos incluyen los recursos alimenticios, agua, lugares de descanso, espacio disponible para cada animal y acceso a individuos del sexo opuesto (Andersen y Bøe, 2007; Estevez et al., 2007; Tamashiro et al., 2005). En condiciones naturales, la disponibilidad de los distintos recursos es un factor determinante en la formación de un grupo. Cuando los recursos están disponibles, el costo de la competencia es bajo, lo que favorece la formación de grupos más numerosos. Sin embargo, si son escasos, la competencia es intensa y

conduce a que el grupo resultante sea de menor tamaño (Pulliam y Caraco, 1984, citado por Estevez et al., 2007). Esta dinámica, que depende de la disponibilidad del alimento, determina la regulación propia del tamaño de cada grupo social cuando están en su ambiente natural.

En animales domésticos la vida en grupos sociales está determinada por los distintos tipos de manejos a los que se someten a los animales. Uno de los manejos más frecuentemente utilizados es el continuo agrupamiento de individuos de distinto origen (Estevez et al., 2007). Los animales de las distintas especies productivas se agrupan según edad, categoría, estatus fisiológico, nutricional o productivo, lo que lleva a que constantemente se produzcan modificaciones del ambiente y de la estructura social del grupo en que se encuentran. Adicionalmente a esto, los sistemas intensivos de producción, combinan estos manejos con una alta densidad de animales con frecuentes restricciones del espacio disponible por animal. Estos tipos de manejos provocan inestabilidad social (Lindberg, 2001) y representan un evento estresante para los individuos involucrados. La continua exposición a un ambiente social inestable puede inducir miedo (Rodenburg y Koene, 2007), lo que combinado con la falta de posibilidades de escape puede llevar a un aumento de las interacciones agresivas entre los animales (Andersen et al., 2008).

Bøe et al. (2006) reportaron en ovinos que en un ambiente social nuevo algunos animales tienen menos oportunidades de acceder a recursos como el área de descanso, lo que lleva a una disminución en el tiempo de descanso por individuo. En este mismo sentido, el tiempo de descanso y la sincronía del mismo disminuyen en cabras cuando se reduce el área de descanso (Andersen y Bøe, 2007). Esto produce que las cabras se desplacen a áreas menos confortables, siendo los animales de bajo rango jerárquico los más afectados (Andersen y Bøe, 2007). Según Fregonesi y Leaver (2002) el tiempo total de descanso y la sincronía del mismo son factores importantes a considerar en relación al bienestar animal. Por otro lado, la falta de posibilidades de huida y la invasión de las distancias mínimas individuales determinan que los animales inevitablemente deban confrontar al oponente, generando conflictos que muchas veces conducen a lesiones físicas en los individuos enfrentados. Las distancias mínimas individuales son las distancias críticas mínimas que se establecen entre un animal y los demás integrantes del grupo (Paranhos da Costa e Nascimento Jr., 1986; citado por Gonsalves Neto et al., 2009), que provocan comportamientos de desplazamiento de animales dominantes y de retirada de los subordinados (Hediger, 1940; citado por Aschwanden et al., 2008). La restricción en las distancias individuales está vinculada a la manifestación de comportamientos agresivos ya que fuerzan a los individuos a mantenerse muy próximos en el espacio (Aschwanden et al., 2008; Bøe y Færevik, 2003). Se ha observado en cabras que las distancias individuales están determinadas por el momento en que son agrupadas y el tipo de lazos sociales que presentan (Aschwanden et al., 2008). Cabras que fueron agrupadas en la etapa juvenil y que presentan lazos amigables (definido por mostrar contacto físico durante el descanso) tienen menores distancias individuales (Aschwanden et al., 2008), lo que representa una mayor tolerancia a los individuos del grupo. Se ha observado que terneras agrupadas desde el

nacimiento desarrollaron relaciones preferenciales, manifestadas por menor frecuencia de interacciones agresivas entre ellas que las terneras agrupadas a los 6 o 12 meses (Bouissou y Andrieu, 1977). Esto sugiere que el tipo de vínculo social juega un rol decisivo en el tamaño de las distancias sociales en esta especie.

Las características morfológicas de cada especie también influyen en las necesidades de los individuos cuyo espacio es reducido. Loretz et al. (2004) sostuvieron que los requerimientos de tamaño en áreas de alimentación son marcadamente mayores para cabras que presentan cuernos que para las cabras sin cuernos. Estos autores observaron que la proporción de tiempo empleado en la alimentación disminuyó al aumentar la densidad animal, aunque esta situación no tuvo efecto sobre la cantidad de interacciones agresivas. Se ha propuesto en caprinos que para mantener una alimentación constante cuando aumenta la competencia, algunos individuos deben aumentar la tasa de consumo o alimentarse en horarios diferentes al resto del grupo (Jørgensen et al., 2006). De acuerdo a Jørgensen et al. (2006) aumentar la densidad animal en áreas de alimentación determina una disminución del tiempo dedicado a dicha actividad y un aumento en el número de interacciones agresivas. En bovinos, se observó que el aumento en el tamaño en el área de alimentación produce un aumento en el tiempo de alimentación y una disminución en el nivel de agresión (DeVries et al., 2004). En esta especie, el reagrupamiento de animales desconocidos produce un aumento en la cantidad de interacciones agresivas y sexuales (Mounier et al., 2005). Dichos cambios en el comportamiento se atribuyen al establecimiento de la jerarquía social (Mounier et al., 2005).

Otro factor que influye en la dinámica de la vida en grupos sociales cuando aumenta la densidad es el peso corporal de los animales que se agrupan. Cuando se mezclan animales de peso corporal similar, usualmente pelean más y por un tiempo más prolongado que animales de pesos heterogéneos (Rushen 1987; citado por Mounier et al., 2005). Sin embargo, Mounier et al. (2005) no encontraron diferencias en la tasa de crecimiento y en la eficiencia alimentaria de bovinos de grupos homogéneos y heterogéneos en peso corporal. Otro efecto del aumento en la densidad, es la presentación de comportamientos agresivos hacia otros individuos del grupo (Rodenburg y Koene, 2007). En cerdas, el aumento en el tamaño del grupo es un factor predisponente para la presentación de lesiones por mordidas (Rizvi et al., 1998).

La composición social del grupo en que se cría a los animales es de gran importancia. Se ha observado que cuando se crían ovejas y cabras con hembras de especies cruzadas, éstas pasan mayor tiempo con las hembras de la especie con que fueron criadas (Tomlinson y Price, 1979). Similarmente, se ha determinado que cuando se crían machos ovinos y caprinos con hembras de especie cruzada, éstos prefieren cortejar y montar a las hembras de la especie con la que fueron criados en lugar de las de su propia especie (Kendrick et al., 1998; Sambraus y Nwaokolo, 1977;

citado por Price, 1987). Por otro lado, machos criados en grupos monosexuales, muestran una preferencia sexual hacia sus compañeros en lugar de hembras en celo (Zenchak et al., 1981). En corderos, la actividad de monta se manifiesta ya desde los 5-6 meses de edad. La expresión del comportamiento de monta por parte del macho requiere una mínima concentración de testosterona (Holmes, 1986), la que varía según la época reproductiva (Schanbacher y Lunstra, 1976). Illius et al. (1976a) determinaron que la continua exposición de corderos durante los primeros 6 meses de vida a ovejas en celo, provocó un aumento en la concentración de testosterona y el tamaño testicular alcanzado en su vida adulta. Por lo que la concentración de testosterona puede además afectarse por el ambiente social en que se encuentran los machos (Waites y Setchell, 1990).

Si bien el ambiente social donde se cría a los machos influye en su futuro desempeño sexual, se ha encontrado que cuando alcanzan la pubertad y se exponen a una oveja en celo, los corderos igual manifiestan un comportamiento sexual normal. A su vez, el mantenimiento de dicho comportamiento dependerá de las experiencias sexuales tempranas (Tilbrook y Cameron, 1990). Una baja actividad sexual por parte de carneros adultos, se relaciona con experiencias negativas cuando inician su actividad sexual (Zenchak y Anderson, 1980). Esta información tiene gran importancia en los sistemas productivos que utilizan carneros jóvenes en las majadas de cría (Kridli y Said, 1999), ya que carneros criados aislados de hembras podrían requerir numerosas exposiciones previas a hembras con las que obtener experiencia sexual para la encarnerada (Kirdli y Said, 1999).

La influencia de factores sociales, como la presentación de una hembra en celo a carneros sin experiencia antes de la época reproductiva mejora su futuro desempeño sexual (Kridli y Said, 1999). Se ha observado que la exposición temprana de corderos a ovejas en celo puede mejorar su posterior actividad sexual cuando son adultos (Price et al., 1994; Stellflug y Lewis, 2007). Price et al. (1991) sostuvieron que una o dos exposiciones a una hembra en celo son suficientes para lograr un desempeño sexual de carneros inexperientes similar al de carneros con experiencia. Gonzalez et al. (1989) observaron que este estrecho contacto, determina cambios en la fisiología reproductiva de los machos, generando un aumento en la secreción de testosterona y de libido. En carneros adultos, el contacto previo con otro carnero que ha tenido contacto con una oveja, aumenta su desempeño sexual frente a una hembra en celo (Maina y Katz, 1999).

En resumen, la vida en grupos sociales tiene ventajas vinculadas principalmente al tiempo disponible por animal para realizar distintas actividades. Sin embargo, la principal desventaja incluye la competencia por los recursos, la que conduce al conflicto social resultante del aumento en la frecuencia de agresiones, que puede llevar a la disminución en la productividad individual. En ambientes naturales, tanto el tamaño como la densidad del grupo están determinados por los propios individuos del grupo. En condiciones comerciales, estos factores son regulados por las

características propias de los sistemas productivos, lo que lleva a que los individuos deban desarrollar estrategias comportamentales con el fin de evitar los conflictos sociales. Por otra parte, los factores sociales en etapas tempranas del desarrollo pueden influir en la capacidad reproductiva individual en los animales cuando son adultos.

1.3. Efectos de la jerarquía sobre la producción en rumiantes

En esta sección se describirán los efectos de la jerarquía social sobre la producción en rumiantes. Los efectos específicos de la misma sobre el desempeño reproductivo se detallarán en la siguiente sección.

Los individuos de alto rango jerárquico tienen prioridad de acceso a recursos (Masteller y Bailey, 1988; Stricklin y Mench, 1987). Por esto las relaciones de dominancia-subordinación son de gran importancia para los sistemas intensivos de producción. Se ha vinculado la jerarquía social con la productividad de los animales. El aumento en la densidad de animales, lleva a que los individuos de bajo rango jerárquico no tengan la oportunidad de evitar confrontaciones, teniendo que adoptar estrategias que les permitan enfrentar la situación. Un individuo de bajo rango jerárquico se favorecería al no desafiar a uno de rango alto por la obtención de los recursos, ya que si lo hiciera, probablemente no obtendría el recurso, además de aumentar el riesgo de injuria (Fournier y Festa-Bianchet, 1995). El resultado de dicha situación, es la disminución de la ingesta en estos individuos, y con ello la disminución en la producción (Galindo y Orihuela, 2004). Barroso et al. (2000) sostuvieron que los individuos más agresivos fueron los que ocuparon posiciones jerárquicas altas. Sin embargo, a pesar de que dichos individuos tienen que ser más agresivos para alcanzar una alta posición social, dicho comportamiento no se presenta en todas las situaciones sociales (Lindberg, 2001). Por ejemplo, durante el mantenimiento de la jerarquía, la frecuencia de los comportamientos más agresivos disminuye ya que esto representa una ventaja al disminuir las probabilidades de lesiones en los integrantes del grupo (Lindberg, 2001).

Se asume que, el comportamiento de los individuos de bajo rango jerárquico es reprimido por los de alto rango, lo que conduce a consecuencias negativas en la producción. Dichas consecuencias se acentúan cuando los individuos son forzados a vivir próximos, sin posibilidad de emigración (Mendl y Deag, 1995). En bovinos se ha reportado que vacas de alto rango jerárquico tienen una producción de leche cuantitativamente mayor que las de bajo rango (Val-Lalliet et al., 2008). A su vez, Dobson y Smith (2000) observaron que vacas que aumentaron su rango jerárquico tuvieron una mayor producción de leche y fueron más fértiles que aquellas que disminuyeron su rango. En cabras, los individuos de alto rango jerárquico producen mayor cantidad de leche, la que a su vez tiene mayor contenido proteico (Patón et al., 1995). Sin embargo, en otros trabajos se

observó que cabras que se encontraban en un rango jerárquico medio produjeron más leche que individuos de alto rango (Barroso et al., 2000; Fernández et al., 2007).

También se ha vinculado la jerarquía social con la sanidad animal. Ungerfeld y Correa (2007) observaron que luego de un tratamiento antiparasitario se produce un aumento más rápido de la carga parasitaria y cantidad de huevos en materia fecal en cabras de rango jerárquico bajo y medio que las de alto rango. Galindo y Broom (2000) observaron que los bovinos que presentaron mayor incidencia de enfermedades podales fueron los de bajo rango.

En síntesis, la jerarquía social determina un acceso diferencial a los recursos que determina que los individuos en un grupo presenten diferencias en diversos aspectos de la producción animal.

1.4. Efectos de la jerarquía sobre la reproducción en rumiantes

Los machos de alto rango jerárquico tienen mayor éxito reproductivo que los de bajo rango. Esto ya se manifiesta durante el desarrollo: corderos de alta posición jerárquica aumentan su peso corporal y circunferencia escrotal más temprano que los de posición baja (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a). Estos corderos también son más precoces en la producción de semen y el comportamiento sexual entre macho y hembra (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a). En animales adultos, la simple presencia de un carnero de alto rango jerárquico puede inhibir el comportamiento sexual de los de bajo rango (Ungerfeld y González-Pensado, 2008b; Synnott y Fulkerson, 1984; Tilbrook et al., 1987), representando una forma de “castración psicológica” (Price, 1987). La proporción de ovejas preñadas en una majada disminuye cuando se vasectomiza carneros de alto rango jerárquico, pero no hay efecto si se induce la infertilidad en carneros de bajo rango (Fowler y Jenkins, 1976). Orgeur et al. (1990) observaron que los chivos más agresivos, los que se consideraron de alta posición jerárquica, fueron los individuos sexualmente más activos. Además, se ha reportado que carneros de bajo rango jerárquico pueden ser sexualmente más efectivos en ausencia de carneros de alto rango (Ungerfeld y González-Pensado, 2008b). Sin embargo, la presencia de un carnero de rango bajo o medio no afectó el comportamiento sexual de carneros de alto rango (Ungerfeld, 2011). Por otra parte, la presencia de un carnero de bajo rango jerárquico estimuló el comportamiento sexual en carneros de rango medio (Ungerfeld, 2011). En rumiantes silvestres (*Ammotragus lervia sahariensis*) existe una alta correlación entre el rango social en hembras y el apareamiento con el macho dominante (Cassinello, 1995).

También el rango social influye en la respuesta a desafíos, como el efecto macho. Las cabras de alto rango jerárquico ovulan y conciben antes que las de rango más bajo, probablemente debido a una estimulación más intensa de los machos (Álvarez et al., 2003). En este mismo sentido, en

vaquillonas se observó una respuesta más temprana al estímulo de la bioestimulación en las vaquillonas de mayor peso, las que a su vez fueron las que tuvieron un mayor contacto físico con los machos estimuladores (Fiol et al., 2010). Posteriormente fue corroborado que los machos prefieren cortejar a las vaquillonas de mayor peso en situaciones de competencia (Fiol y Ungerfeld, 2011). Sin embargo, en cabras domésticas cuando el desafío es producido por la administración de hormonas, como en tratamientos de sincronización de celo e inseminación a tiempo fijo no se observó relación entre el rango social y la tasa de concepción (Ungerfeld et al., 2007).

En síntesis, se han documentado los diversos efectos que tiene la jerarquía social sobre el éxito reproductivo, tanto en machos como en hembras. Estos efectos están vinculados principalmente al desarrollo del comportamiento sexual de los machos frente a hembras en celo, y a la respuesta de las hembras frente a desafíos como el efecto macho.

1.5. Estrés social en animales domésticos

El estrés social es común en muchas especies animales y se puede producir como consecuencia de la competencia por recursos como el espacio, la pareja reproductiva, el alimento, o el agua (Tamashiro et al., 2005). Tanto el establecimiento de la jerarquía como el mantenimiento del estatus social individual son física y psicológicamente estresantes, ya sea para los individuos que resultan dominantes como los que resultan subordinados en las interacciones (Tamashiro et al., 2005).

Distintos manejos como el reagrupamiento de animales de diferente procedencia son prácticas comunes que se realizan en las especies productivas (Bøe y Færevik, 2003; Veissier et al., 2001). Dichos manejos implican el agrupamiento de animales de diferente procedencia con el fin de formar grupos homogéneos. Esto lleva a una disrupción temporal de la estructura social del rebaño, donde los integrantes del grupo deben restablecer su jerarquía (Mench et al., 1990), lo que implica un aumento en las interacciones agresivas -interacciones agonistas (IA) espontáneas - (Bøe y Færevik, 2003; Ruiz de la Torre y Manteca, 1999), lo que en sí mismo representa un evento estresante (Hanlon et al., 1995; Hasegawa et al., 1997; Raussi et al., 2006). Este aumento en la actividad general y en la cantidad de IA es de menor magnitud luego de reiterados reagrupamientos (Veissier et al., 2001). Por tanto, la experiencia previa de este tipo de manejos reduce los problemas asociados a la integración de los animales. Kondo y Hurnik (1990) observaron que vacas con experiencia social previa formaron una jerarquía social estable entre los días 0 y 2 después de agruparse, mientras que las que no tuvieron experiencia social previa necesitaron 2 a 4 días para alcanzar la estabilidad jerárquica. Hasegawa et al. (1997) sostuvieron que el agrupamiento en vacas lecheras produjo cambios en el comportamiento social y en la actividad locomotora, y que dichos cambios se mantuvieron hasta los 5 a 15 días luego del agrupamiento.

Alley y Fordham (1994) sostuvieron que la introducción de un nuevo individuo a un grupo socialmente estable, causa un aumento inmediato en la frecuencia de las IA. En bovinos, el reagrupamiento conduce a un aumento en la agresividad, así como también una disminución en la producción de leche, principalmente en animales de bajo rango jerárquico (Hasegawa et al., 1997). Veissier et al. (2001) observaron que el reagrupamiento de terneros de origen desconocido produce una disminución en el tiempo de descanso, aumento en el comportamiento agresivo y la actividad locomotora diaria. Sin embargo, estos cambios solamente son evidentes luego del primer reagrupamiento, sugiriendo que estos animales muestran una rápida habituación a los cambios de su ambiente social. En cabras, Fernández et al. (2007) observaron un aumento en la frecuencia de IA espontáneas hasta el tercer día luego del reagrupamiento. Dichos autores (Fernández et al., 2007) sostuvieron que dicho tiempo es suficiente para el restablecimiento de la jerarquía social en caprinos. Sin embargo, solamente durante el primer reagrupamiento se observó una disminución en la producción de leche, lo que podría indicar que en caprinos existe una importante capacidad de adaptación al manejo de reagrupamiento (Fernández et al., 2007). Sevi et al. (2001) observaron que el reagrupamiento y realojamiento de ovejas produce un aumento en la frecuencia de comportamientos agresivos, alteración en la respuesta inmune, y disminuye la producción y la calidad de la leche a corto plazo. En cerdos, se observó la mayor frecuencia de comportamientos agresivos inmediatamente después del reagrupamiento (Luescher et. al., 1990).

Otro factor importante que produce estrés social se vincula con el tamaño del grupo que se forma: Andersen et al. (2004) observaron más peleas por individuo en grupos de 6 y 12 cerdos (reagrupados post destete) que en grupos de 24 animales. Sostuvieron que esta situación se produjo debido al alto porcentaje de animales que no participaron en peleas en grupos grandes. Estos autores explicaron que esto podría ser una estrategia comportamental cuyo fin sería evitar el costo energético que se emplea en las interacciones sociales. Al aumentar el número de competidores, la probabilidad de éxito en la obtención de los recursos disminuye, por lo que sería una estrategia defensiva benéfica cuando aumenta la cantidad de individuos en un grupo (Andersen et al., 2004). Takeda et al. (2003) observaron que los terneros que pertenecían a grupos de 5 animales fueron más calmos que animales alojados de a pares. Veissier et al. (2001) observaron que el reagrupamiento en terneros no tuvo efectos negativos significativos en el consumo de alimento, tasa de crecimiento y la eficiencia alimenticia. Tampoco se observaron efectos en la concentración de cortisol basal, ni en el tamaño de las glándulas adrenales y el timo en animales reagrupados (Veissier et al., 2001). Esto indicaría que esta especie sería menos sensible al reagrupamiento que otras. Vaquillonas que fueron repetidamente reagrupadas reaccionaron en menor grado durante los tests de comportamiento (test de reacción a estímulos nuevos), y tuvieron menor concentración de cortisol sanguíneo que los animales que no habían sido reagrupados (Raussi et al., 2006). Además el reagrupamiento no tuvo ningún efecto sobre la tasa de crecimiento ni en el éxito reproductivo (determinado por el número de inseminaciones/inseminación fértil) (Raussi et al., 2006). Por otro lado, Andersen et al. (2008) observaron que cabritos de grupos socialmente inestables mostraron mayor cantidad de comportamientos exploratorios y presentaron

una habituación más rápida y flexible cuando fueron separados de sus madres y del resto del grupo. Por otra parte, Ruiz de la Torre y Manteca (1999) observaron en corderos que la administración de testosterona luego de agrupar individuos desconocidos, aumentó la tendencia a establecer relaciones de dominancia/subordinación entre ellos. Por ello sugirieron que en ovinos, la testosterona aumenta la motivación de los animales a establecer las relaciones de dominancia, más que la agresividad en si (Ruiz de la Torre y Manteca, 1999).

En síntesis, el reagrupamiento de animales de distinto origen es una práctica común en producción animal. Dicho manejo genera diversos grados de estrés social y determina un aumento en la frecuencia de interacciones agresivas en el grupo.

1.6. Consecuencias fisiológicas del estrés social y rango jerárquico

La exposición aguda a un estímulo estresante desencadena una respuesta endócrina inespecífica, caracterizada por la activación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal y el sistema simpato-adrenal (Apple et al., 1995; Tilbrook et al., 2000). La estimulación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal produce la liberación del factor liberador de corticotropina (CRF), que al ser liberado al sistema porta-hipofisario estimula a las células corticotropas de la hipófisis anterior. Estas células producen la hormona adrenocorticotropina (ACTH), que actúa sobre la corteza de las glándulas adrenales promoviendo la síntesis y liberación de glucocorticoides (cortisol, corticosterona) (Chichinadze y Chichinadze, 2008; DeVries et al., 2003). Estas hormonas contribuyen a la adaptación del organismo al episodio estresante mediante diferentes cambios fisiológicos (Apple et al., 1995). Los glucocorticoides ejercen una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis, regulando la liberación de CRF y ACTH respectivamente (Sapolsky et al., 2000; Tilbrook et al., 2000). Por lo tanto, la concentración sérica de glucocorticoides es un buen indicador de estrés agudo. Reagrupar animales puede aumentar significativamente la liberación de cortisol en distintas especies (bovinos: Mench et al., 1990; suinos: Ekkel et al., 1995; ciervos: Hanlon et al., 1995). Según Sevi et al. (2001) el aumento en la liberación de cortisol frente a la inestabilidad social en ovejas alcanzó un pico pocos minutos después del reagrupamiento. Dicho incremento estaría relacionado con el estrés emocional causado por la necesidad de establecer un nuevo orden jerárquico (Sevi et al., 2001). Sin embargo, Rausi et al. (2006) observaron que vaquillonas que fueron reagrupadas repetidas veces tuvieron menor concentración de cortisol y una respuesta a la ACTH similar que vaquillonas no reagrupadas.

Por otro lado, la posición jerárquica de los individuos que son reagrupados también influye en la respuesta al estrés. Hasegawa et al. (1997) reportaron que la concentración de cortisol sanguíneo fue mayor en bovinos lecheros de alto rango social que en los de bajo rango luego del reagrupamiento, mientras que en animales de rango medio y bajo no se modificó. Mooring et al. (2006) plantearon que este efecto sobre los animales de alto rango jerárquico se explica a través de

la hipótesis llamada: “estrés de la dominancia”. Esta hipótesis sostiene que los individuos de alto rango social se estresan en mayor medida ya que participan en mayor cantidad de peleas para mantener su posición jerárquica, lo que incurre un mayor costo energético (Creel, 2001; Mooring et al., 2006). Sin embargo, Mench et al. (1990) reportaron en bovinos, que las hembras subordinadas presentaron mayor concentración de cortisol que las dominantes luego del agrupamiento. Por otra parte, Gust et al. (1996) observaron que, si bien en monos rhesus la formación de un grupo social genera una respuesta de estrés en individuos de alto y bajo rango social, estos últimos se afectan en mayor medida. Sapolsky (1982), Ostner et al. (2008) y Setchell et al. (2010) observaron una mayor concentración de corticoides en monos subordinados que en dominantes en un ambiente socialmente estable. Sin embargo, en un grupo socialmente estable McGuire et al. (1986) encontraron que la concentración de cortisol en monos dominantes y subordinados fue similar. En roedores, se ha observado que los machos que resultan subordinados tienen mayor concentración de glucocorticoides plasmáticos que los dominantes (Monder et al., 1994). En el mismo sentido, Ely y Henry (1978), De Goeij et al. (1992) y Popova y Naumenko (1972; citado por Adeymo y Heath, 1982) observaron que roedores machos dominantes secretan menos glucocorticoides que los subordinados. Tamashiro et al. (2005) observaron en roedores que tanto dominantes como subordinados presentaron elevada concentración de corticoides cuando se exponen a un episodio de estrés social. Hardy et al. (2002) no encontraron diferencias significativas en la concentración de cortisol en ratas macho según el rango social. En bovinos, Arave et al. (1977) no encontraron una correlación significativa entre el rango jerárquico y la concentración plasmática de cortisol luego del reagrupamiento. Goymann y Wingfield (2004) afirmaron que más que la posición jerárquica en sí, es la manera en que se adquiere y mantiene el estatus social lo que determina los costos fisiológicos del estrés. Estos trabajos indican que la relación entre los glucocorticoides y el rango social depende del ambiente social en que se encuentren los animales.

Los roedores han sido muy utilizados como modelo de estudio del estrés social. El modelo *V.B.S.* (Visible Burrow System) es un modelo desarrollado para el estudio de la agresión de estrés social en roedores machos (Tamashiro et al., 2007a). Consiste en agrupar machos y hembras en una colonia durante 14 o más días. Dentro de un período de 3-4 días, se establece la jerarquía social entre los machos, donde solamente un individuo alcanza la posición de dominante y el resto son subordinados (Tamashiro et al., 2004; 2005; 2007a). La presencia de hembras en este modelo, se debe a que en esta especie se requiere de éstas para la formación de la jerarquía social entre los machos (Tamashiro et al., 2004). En dicho modelo se ha observado que los machos subordinados sufren mayores consecuencias comportamentales y fisiológicas como consecuencia del estrés social (Tamashiro et al., 2004). Uno de los cambios más consistentes es la disminución de peso corporal (Tamashiro et al., 2007a, Blanchard et al., 1995): los machos subordinados presentan una mayor pérdida de peso corporal en comparación con los dominantes (Tamashiro et al., 2004). Los dominantes pierden peso en menor medida en la etapa inicial de la formación de la jerarquía, aunque este efecto rápidamente se revierte, incluso luego pueden exceder su peso inicial. El efecto en machos subordinados, se produce como consecuencia de una disminución en la ingesta, por el

aumento en la actividad metabólica, o por una combinación de ambos factores. Se ha observado que en machos subordinados se produce la pérdida de tejido adiposo y magro, mientras que en dominantes se produce exclusivamente la pérdida de tejido adiposo (Tamashiro et al., 2007b). Una vez que el episodio estresante cesa, los machos subordinados tienden a ganar el peso corporal perdido a expensas principalmente de la ganancia en tejido adiposo (Tamashiro et al., 2007a). Tamashiro et al. (2007a) sostuvieron que dicha ganancia podría estar favorecida por la elevada concentración de glucocorticoides. La actividad del eje hipófiso-adrenal puede tener un gran impacto sobre la distribución del tejido adiposo (Fernandez-Rodriguez et al., 2009). Además se produce un mayor aumento de la deposición de grasa visceral en machos subordinados que en dominantes (Tamashiro et al., 2007a). Otros efectos observados en los machos subordinados frente al modelo V.B.S. son la hiperinsulinemia e hiperleptinemia, lo que es consistente con el detrimento en su perfil metabólico (Tamashiro et al., 2007a).

Diversos estresores (estímulos que alteran la homeostasis; Rivier y Rivest, 1991) producen cambios hormonales (Carcangiu et al., 2008; Nazifi et al., 2003; Paltrinieri et al., 2002) y hematológicos de los animales. Dichos cambios incluyen modificaciones en el hematocrito, y en las concentraciones hemoglobina, proteínas plasmáticas y fibrinógeno. Se ha observado una disminución en los valores de hematocrito en ovinos y caprinos luego de un episodio de estrés por transporte y aislamiento (Al-Qarawi y Ali, 2005; Ali et al., 2006). Por otro lado, se ha registrado un aumento en la concentración de hemoglobina en animales sometidos a aislamiento (Al-Qarawi y Ali, 2005) y al estrés del transporte (Ali et al., 2006). En ovinos sometidos al estrés del transporte, se ha registrado un aumento en la concentración de proteínas plasmáticas (Nazifi et al., 2003). Sin embargo, en corderos sometidos a estrés por aislamiento, se observó una disminución en la concentración de dicha variable a las 18 horas post-estrés (Apple et al., 1993). Posiblemente, el efecto sobre las proteínas plasmáticas se vincule al tipo de estresor al que se somete a los animales y por tanto sus modificaciones no puedan generalizarse (Apple et al., 1993). Por otra parte, la valoración de la concentración de fibrinógeno también es utilizada como indicadora de la respuesta de estrés. Arthington et al. (2003) registraron un aumento en la concentración de fibrinógeno plasmático luego de un episodio de estrés por transporte en terneros.

En síntesis, como consecuencia del estrés social se observan cambios endócrinos, como el aumento en la concentración de cortisol y físicos como la disminución de peso corporal. Dichos cambios difieren de acuerdo al rango jerárquico de los animales y el tipo de estrés social involucrado.

1.7. Estrés social y reproducción en machos

Los efectos del estrés sobre la reproducción en mamíferos han sido extensamente documentados (Rivier y Rivest, 1991). La respuesta frente a un estresor se produce con el fin de obtener energía rápidamente disponible, a la vez que suprimir los procesos fisiológicos que son innecesarios para la supervivencia (Creel, 2001). Los estresores activan el eje hipotálamo-hipófiso-adrenal y el sistema simpato-adrenal. La activación del sistema simpato-adrenal implica la liberación de noradrenalina de las terminales nerviosas postganglionares, mientras que la inervación preganglionar de la medula adrenal resulta en un aumento en la secreción de adrenalina al torrente circulatorio (Goldstein, 1987; citado por Tilbrook et al., 2000). Los glucocorticoides y las catecolaminas actúan conjuntamente generando las condiciones fisiológicas necesarias, que preparan al animal para responder al estímulo estresante.

Los sistemas activados por el estrés pueden impactar sobre la función reproductiva a nivel del hipotálamo, hipófisis o gónadas. La determinación de la concentración de gonadotrofinas es un buen indicador de los efectos del estrés a nivel central, ya que la pulsatilidad de hormona luteinizante (LH) responde a la secreción de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) del hipotálamo (Tilbrook et al., 2000). Tanto la secreción como la acción de la GnRH, responden a la retroalimentación negativa de los esteroides sexuales. El estrés puede alterar la función reproductiva a través de mecanismos que modifiquen la síntesis o la secreción de la GnRH, la respuesta de las células hipofisarias a la GnRH o la acción de los esteroides gonadales (Tilbrook et al., 2000). La disminución en la concentración de GnRH a nivel portal y de la liberación de gonadotrofinas hipofisarias se observa minutos después del inicio de un episodio estresante (Sapolsky et al., 2000). Esta disminución de la liberación de GnRH se produce como consecuencia del aumento de CRF y de la liberación de péptidos opioides que son liberados durante el estrés (Sapolsky y Krely, 1988; citado por Sapolsky et al., 2000). Por otro lado, los glucocorticoides disminuyen la liberación de GnRH hipotalámica y de LH hipofisaria, reducen la respuesta gonadal a la LH y la concentración de receptores de LH testiculares (Sapolsky et al., 2000; Ferin, 2006). Se produce una reducción en la frecuencia y amplitud de los pulsos de LH como resultado de la reducción en la amplitud de los pulsos de GnRH o por un efecto directo sobre las células gonadotropas hipofisarias (Tilbrook et al., 2000).

Por otra parte, en chivos se ha observado que el cambio en la posición jerárquica por la introducción de otros individuos determina una disminución rápida en las principales variables vinculadas con la reproducción, como la producción de testosterona y la calidad seminal (Ortiz de Montellano, 2004). Los andrógenos tienen un efecto importante en el establecimiento de la jerarquía relacionada con la competencia por los recursos dentro de un grupo (Ruiz de la Torre y Manteca, 1999). Por lo tanto, el reagrupamiento social y el establecimiento de la dominancia

concomitante puede modificar la secreción de esta hormona (Ortiz de Montellano, 2004) y con ello afectar la actividad sexual en machos.

Los glucocorticoides tienen un impacto directo en la función testicular. En el modelo *V.B.S.* de estrés social se observó una disminución de la concentración de testosterona en machos subordinados hacia el día 4 (Hardy et al., 2002). El cortisol inhibe el proceso de esteroidogénesis en la célula de Leydig (Ferin, 2006). Se ha propuesto que la enzima 11β hidroxysteroido-deshidrogenasa 2 (11β -HSD2) juega un rol fundamental en los efectos de los glucocorticoides a nivel testicular (Monder et al., 1994). Dicha enzima se encuentra en las células de Leydig, y produce la oxidación de los glucocorticoides a una forma inerte, limitando así los efectos inhibitorios de estos sobre la producción de testosterona (Monder et al., 1994). En machos, la disminución en la concentración de testosterona es uno de los primeros signos de estrés, que repercuten negativamente en la función reproductiva (Ferin, 2006; Hardy et al., 2002). Hardy et al. (2002) afirmaron que en roedores la disminución en la concentración de testosterona podría atribuirse a la falla en las células de Leydig de los animales subordinados de compensar el aumento en la secreción de glucocorticoides provocado por el estrés social mediante la enzima 11β -HSD2. Hardy et al. (2002) encontraron una mayor actividad oxidativa de esta enzima en células de Leydig que provienen de roedores dominantes. Sin embargo en subordinados la capacidad oxidativa es menor (Hardy et al., 2002). Monder et al. (1994) encontraron mayores niveles de 11β -HSD2 en los testículos de ratas dominantes que en los testículos de ratas subordinadas.

Otro efecto sobre la reproducción de mamíferos es una rápida pérdida de la función eréctil en machos como respuesta al estrés (Sapolsky et al., 2000; Wingfield y Sapolsky, 2003). El estrés puede bloquear la capacidad eréctil al impedir el establecimiento del tono parasimpático (inicio de la erección) o puede causar eyaculación prematura acelerando la transición al tono simpático (Wingfield y Sapolsky, 2003).

En síntesis, los efectos del estrés y los mecanismos que median estos efectos dependen del tipo, duración y frecuencia del estímulo estresante (Rivier y Rivest, 1991; Cameron, 1997). Dichos efectos, pueden resultar en cambios en diferentes funciones, entre ellas la función reproductiva.

2. HIPÓTESIS

La posición jerárquica es un componente de la vida en grupos sociales que se ha vinculado con varias características productivas y reproductivas, además de influir en las respuestas fisiológicas de los animales frente a diversas situaciones estresantes. A partir de lo expuesto anteriormente es que se plantearon las siguientes hipótesis:

- *La competencia por diferentes recursos, y la utilización de diferentes métodos para determinar el Índice de Dominancia (ID) de los individuos dentro de un grupo producen diferentes resultados de ID.*
- *El establecimiento de la relación de dominancia-subordinación es un evento estresante que afecta negativamente el desempeño reproductivo de carneros adultos. La disminución en el desempeño reproductivo afecta en mayor medida a los carneros que resultan subordinados.*
- *La posición jerárquica que ocuparon los carneros durante el desarrollo prepuberal afecta su desempeño reproductivo durante su vida adulta.*

3. OBJETIVOS GENERALES

Determinar si existen diferencias en el Índice de Dominancia Individual de los carneros de acuerdo al recurso por el compiten o a la metodología utilizada para calcularlo.

Determinar si el establecimiento del vínculo dominancia-subordinación afecta el desempeño reproductivo de carneros adultos.

Determinar si existen diferencias en el desempeño reproductivo de carneros adultos según la posición jerárquica de los mismos durante el período prepuberal.

4. ESTRATEGIA DE INVESTIGACIÓN

Procedimientos experimentales

Para cumplir con los objetivos mencionados se plantearon tres experimentos. Los Experimentos I y III fueron realizados en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República. El Experimento II fue realizado en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL-Marín, México), como parte de una pasantía efectuada en dicha institución.

En el Experimento I se evaluó si las metodologías de determinación de la jerarquía social producen diferentes resultados en el ID individual en carneros. Se compararon tres metodologías que son algunas de las utilizadas según la bibliografía para establecer dicho índice, determinándose si dichos métodos se vinculan entre sí. La jerarquía se determinó a partir de la competencia por alimento, la competencia por una hembra en celo y registrando las IA espontáneas. En los métodos que utilizan la competencia por recursos, se comparó el resultado del ID obtenido si se le asigna un valor absoluto (ganador/dominante= 1; perdedor/subordinado= 0) o un valor relativo (proporcional al tiempo de acceso al recurso ofrecido) al resultado del enfrentamiento. Además, se comparó el cálculo a partir de las IA espontáneas, utilizando la cantidad de animales dominados (valor absoluto) o la proporción de interacciones dominantes (valor relativo). A partir de los resultados del primer experimento, se optó por utilizar el método de competencia por alimento, calculado a partir de los valores absolutos, el que es de más fácil aplicación.

En el Experimento II se evaluaron los efectos del establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación sobre la reproducción en carneros. Se determinó si el establecimiento de la jerarquía social entre díadas de carneros produce cambios en las principales variables indicadoras de estrés, en la concentración de testosterona y en el comportamiento sexual frente a una hembra en celo. Por otra parte, se determinó si existen diferencias entre los carneros que resultaron dominantes o subordinados en la díada.

Finalmente, en el Experimento III se evaluaron los efectos de la jerarquía social que presentaban los carneros durante el período prepuberal sobre su desempeño reproductivo como adultos. Se determinó si la posición jerárquica que ocupaban los carneros en su etapa prepuberal, generó diferencias en la calidad seminal, el comportamiento sexual frente a una hembra en celo y la concentración de testosterona a los 1,5 y 2,5 años.

5. EXPERIMENTO I. Métodos de determinación de jerarquía social en carneros

5.1. INTRODUCCIÓN

La determinación de las relaciones de dominancia-subordinación se realiza mediante diferentes metodologías. Dentro de estos métodos se incluyen la determinación de la posición jerárquica mediante el registro de los comportamientos agonistas espontáneos, y la determinación mediante la utilización de la competencia por un recurso limitado (agua, alimento o hembras en celo) (Christopher, 1972; Craig y Ramos, 1986; Syme, 1974). La utilización de la competencia por recursos ha sido ampliamente difundida en grupos de animales en que la frecuencia de agresividad es baja (Syme, 1974). La determinación de la jerarquía en situaciones de competencia se basa en el concepto de que un animal de alto rango jerárquico generalmente tiene prioridad de acceso a los recursos cuando éstos son escasos (Lindberg, 2001). Para construir este “orden competitivo”, existen varias formas de establecer que un animal es dominante sobre otro. La competencia por los recursos puede realizarse entre todos los animales del grupo (Lindsay et al., 1976; Syme y Syme, 1974) o entre pares de individuos (Syme et al., 1975). Además, puede considerarse como dominante al animal que accede por más tiempo al recurso (mayor tiempo de acceso al alimento o la hembra) o en caso de utilizar la competencia por alimento, el que consume la mayor cantidad de alimento (Syme, 1974). Sin embargo, no existe un método estandarizado para la determinación de la jerarquía. En bovinos, Tennessen y Gonyou (1981; citado por Ellard y Crowell-Davis, 1989) no encontraron una correlación entre el rango social obtenido por test de competencia por alimento y el obtenido mediante el registro del comportamiento agresivo. Landaeta-Hernández et al. (2005) compararon tres métodos de determinación de jerarquía utilizando IA espontáneas en bovinos. El primer método consistió en el cálculo en base a la proporción de individuos dominados/individuos enfrentados. El segundo método consideró la tasa entre enfrentamientos ganados/total de enfrentamientos. El tercer método fue una modificación de los dos anteriores y utilizó la proporción de individuos dominados en relación al total de individuos en el grupo. Dichos autores sostuvieron que el tercer método es más adecuado, ya que no siempre existen enfrentamientos espontáneos entre todas las combinaciones de animales en un grupo.

La información disponible sobre la relación entre diferentes estrategias para determinar la jerarquía en ovinos es escasa, al igual que la existente sobre cómo influye el recurso por el que se compite. Lindsay et al. (1976) y Tilbrook (1984) encontraron una relación significativa entre el rango social de carneros que compitieron por alimento con el rango obtenido a través de la competencia por hembras en celo. Sin embargo, Winfield et al. (1975; citado por Tilbrook y Cameron, 1990), no encontraron una relación en el rango social obtenido por ambos métodos. Erhard et al. (1998) observaron que carneros de baja libido mostraron mayor motivación frente al alimento que frente

a una oveja en celo, mientras que en carneros de alta libido no hay tal diferencia. Por lo tanto, plantearon que la posición jerárquica que se obtiene a través de éstas competencias, se vincula con la motivación que le genere al individuo el recurso por el que se compite. Syme (1974) señaló que durante los test de competencia, no hay control de la motivación por el recurso por el que se compite. Por otra parte, Banks et al. (1979) observaron en aves que la competencia entre los individuos solo se produjo cuando el alimento fue el recurso en disputa. Esto hace que posiblemente la competencia por el alimento sea más adecuada, ya que la motivación por dicho recurso es más homogénea para todas las especies. Sin embargo, no existe información sintetizada que permita determinar que aproximación es más adecuada en función del trabajo en que se pretende aplicar dicha metodología. Por tanto, cabe especular que la utilización de diferentes recursos en los test de determinación de jerarquía producirán diferentes resultados en las posiciones jerárquicas.

En los test de competencia por alimento, se realiza una privación del recurso por varias horas (ovinos: 12 h: Tilbrook et al., 1987; 24 h: Lindsay et al., 1976), lo que aumenta la motivación en la competencia sin causar un episodio de estrés en los animales involucrados. Posteriormente se realizan enfrentamientos de a dos animales (test de díadas) que intentan acceder al recurso (Syme, 1974). El resultado de dichos enfrentamientos determina que se le adjudique el valor de 1 al individuo que se alimenta por más tiempo y 0 al otro individuo del par (valor absoluto). Sin embargo, durante la realización de dichos tests en carneros, se ha observado que en muchas oportunidades existe una competencia entre los individuos que se enfrentan que conduce a que uno de ellos obtenga el recurso por mayor tiempo, pero no en forma exclusiva. Por tanto, se planteó relativizar el valor obtenido (valor relativo) en los enfrentamientos en forma proporcional al tiempo durante el que cada individuo obtiene el recurso.

Los test de competencia por hembras también son utilizados para la determinación de la jerarquía (Erhard et al., 1998). En estos el estímulo aplicado es diferente, lo que supone que el índice obtenido podría variar. En esta metodología se utiliza la competencia por una hembra en celo, considerándose dominante al macho que está por más tiempo cortejando y montando a la hembra. Al igual que en el caso anterior, no siempre se observa un ganador absoluto en los enfrentamientos, lo que conduce a pensar que valores relativos al tiempo que un individuo cortejó a la hembra serían más adecuados.

Algunas definiciones teóricas sostienen que un animal debe ser considerado dominante si éste gana significativamente más veces sobre otro individuo dentro de un número de encuentros (Drews, 1993; De Vries, 1998). El cálculo del ID individual mediante el empleo de IA espontáneas es frecuentemente utilizado (Álvarez et al., 2003; Barroso et al., 2000; Fernández et al., 2007; Galindo y Broom, 2000; Ungerfeld y Correa, 2007; Val-Laillet et al., 2008). Por tanto, la tercera metodología

desarrollada para determinar la relación de dominancia es utilizar las IA espontáneas, donde se observa la estructura social fuera de la competencia por un recurso específico. Las IA espontáneas pueden definirse como una pelea o enfrentamiento entre dos individuos (Puppe et al., 2008), donde uno de ellos resulta ganador (dominante), y otro perdedor (subordinado). Esta metodología consiste en el registro del comportamiento espontáneo que presentan los integrantes de un grupo en su ambiente durante un período de tiempo. De esta manera, con las IA espontáneas observadas entre las diferentes díadas, a partir de un claro criterio de ganador/perdedor (dominante/subordinado), se construye una matriz sociométrica donde se incluye dicha información (Lehner, 1996). Dicha matriz es la base para la determinación de la posición jerárquica de cada integrante del grupo (Langbein y Puppe, 2004). A partir de la obtención de las IA, puede calcularse el valor del ID Individual mediante diferentes cálculos (De Vries, 1998; Landaeta-Hernández et al., 2005; Langbein y Puppe, 2004; Wierenga, 1990) lo que genera diferencias en la valoración de éste índice.

De esta manera, puede calcularse el número de animales que fueron dominados por un individuo en relación a todos los animales con los que interactuó (valor absoluto), el que se considera para el cálculo del siguiente índice (Lamprecht, 1986; Mendl et al., 1992):

Índice de Dominancia= *número de individuos desplazados/número de individuos desplazados + número de individuos que lo desplazaron*

Por otra parte, también puede calcularse utilizando el número de IA espontáneas observadas entre cada díada (valor relativo) (Galindo y Broom, 2000):

Índice de Dominancia= *cantidad de IA que dominó/cantidad de IA que dominó + cantidad de IA en que fue dominado*

El ID absoluto estima cuan bueno es un individuo en desplazar a sus compañeros de grupo al menos una vez. El ID relativo representa la frecuencia con que un animal desplaza a otros en el grupo sin ser desplazado. Sin embargo, el ID relativo tiene la limitante de que puede determinar valores distorsionados a partir de la existencia de IA espontáneas muy frecuentes entre una díada. Por ejemplo, un animal que desplaza a pocos individuos pero con una frecuencia alta de desplazamientos dominantes, puede obtener un ID alto si se toma en cuenta el valor relativo en el cálculo del ID. Sin embargo, un animal que es dominante sobre la mayoría de los integrantes del grupo pero tiene una frecuencia de desplazamientos dominantes menor, calculando su ID con su valor relativo, obtendría un ID bajo. De esta manera, podría considerarse que el cálculo absoluto (cantidad de individuos desplazados) representa una metodología más ajustada en estos casos. De todas formas, a través de estos cálculos puede determinarse la cantidad total de individuos dominados o tomar la proporción de IA espontáneas que domina de cada individuo para calcular la posición jerárquica.

Todas estas metodologías permiten asignarle un valor a cada individuo, que representa su posición social dentro del grupo. Dicho valor de ID Individual, permite categorizar a cada individuo en una posición jerárquica dentro del grupo. Dadas las diferencias entre los distintos métodos para determinar la jerarquía social en rumiantes, es que se planteó la *hipótesis de que la utilización de diferentes métodos para determinar el Índice de Dominancia Individual dentro de un grupo de carneros produce diferentes resultados.*

5.2. OBJETIVOS

Determinar si la forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) entre díadas que compiten por alimento determina diferentes resultados en el ID Individual de los carneros.

Determinar si la forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) entre díadas que compiten por una hembra en celo determina diferentes resultados en el ID Individual de los carneros.

Determinar si la forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) entre díadas utilizando IA espontáneas, determina diferentes resultados en el ID Individual de los carneros.

Determinar si existe una relación directa entre los resultados determinados a partir de la competencia por alimento, por una hembra en celo o mediante IA espontáneas.

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1. Animales y manejo

El experimento se realizó en las instalaciones del Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria. Se utilizaron 12 carneros Corriedale X Milchschaf (1,5 años). Los mismos fueron trasladados a las instalaciones y acostumbrados a las mismas, al consumo de ración diario, y al contacto con hembras 2 meses antes de comenzar la experiencia. Los animales permanecieron en un corral de 10 X 10 m, durante la realización del experimento. La determinación de la jerarquía social se realizó durante diferentes días para cada método en forma intercalada durante la estación reproductiva.

5.3.2. Determinación de la jerarquía

Test de Competencia por el Alimento

Para la realización de este test, se dejó a los carneros sin acceso al alimento por una noche (12 h de ayuno). En la mañana siguiente se colocaron dos carneros en un corral conocido de 2 X 2 m, y se les ofreció ración en un comedero donde solamente un individuo tenía acceso. Cada test se realizó durante 5 min, utilizando una sola vez por día a cada carnero. Se realizaron tests en diferentes días hasta completar un test para cada día. Cada enfrentamiento fue filmado y se registró el tiempo de alimentación (cronómetro) de cada uno de los animales. Se determinó el ID individual mediante dos cálculos diferentes. El primero de ellos, que es el utilizado habitualmente en la bibliografía, le adjudica un valor de 1 al individuo que se alimentó por más tiempo y 0 al otro individuo (valor absoluto). Un segundo cálculo donde se adjudicó un valor proporcional al tiempo total que cada carnero accedió al alimento (valor relativo). Al finalizar todos los enfrentamientos posibles se sumó el valor total adjudicado a cada carnero por cada método. El valor final de cada individuo se consideró en función a los 11 enfrentamientos en que cada uno participó. De esta manera se obtuvo el ID individual absoluto y relativo para cada carnero.

Test de Competencia por una hembra en celo

Se determinó la jerarquía utilizando la competencia entre individuos por una hembra en celo. Para ello se realizaron enfrentamientos con todas las combinaciones posibles entre los carneros, realizando no más de un test por individuo por día. Se colocó una pareja de carneros en un corral conocido de 2 X 2 m con una oveja en celo inducido hormonalmente (5-6 días con esponjas impregnadas con 50 mg de acetato de medroxiprogesterona, e inyecciones de 0,1 mg/kg de benzoato de estradiol cada 12 h y hasta 12 h antes del test). Cada hembra permaneció atada durante cada test, de forma tal de minimizar los efectos de preferencia de la hembra sobre el

comportamiento sexual de los machos, y se determinó durante 30 minutos el tiempo dedicado por cada macho al cortejo de la hembra. De igual forma que en el test de competencia por el alimento, se calcularon los ID individuales de dos formas: adjudicación de un valor 1 al individuo que cortejó más tiempo (valor absoluto), o de valores proporcionales al tiempo de cortejo de cada individuo (valor relativo). Al finalizar todos los enfrentamientos posibles se sumó el valor total adjudicado a cada carnero por cada método y el valor final de cada individuo se consideró en función de los 11 enfrentamientos en que cada uno participó.

Interacciones agonistas espontáneas

Se determinó la jerarquía por medio del registro de las IA espontáneas. Las mismas se registraron durante aproximadamente 3 h semanales durante los meses de enero a julio (estación reproductiva), totalizando 102 h de observación. Se registró el comportamiento de todos los animales en su encierro, se consideró el individuo que dominó en la interacción siempre que la misma implicara el desplazamiento físico entre los carneros. Se calculó el ID, según Álvarez et al. (2003) y Mendl et al. (1992):

Índice de Dominancia= $\frac{\text{número de individuos desplazados}}{\text{número de individuos desplazados} + \text{número de individuos que lo desplazaron}}$

Este índice varía de 0 a 1 (valor absoluto), donde el individuo que dominó a todos los individuos con los que interactuó obtiene el mayor valor (1), mientras que el que se subordinó frente a todos los individuos con los que interactuó obtiene el menor valor (0). Por otra parte, se calculó el valor relativo de acuerdo a la cantidad de IA espontáneas dominantes de cada individuo, asignándole un valor proporcional a cada individuo (valor relativo) (Galindo y Broom, 2000).

Índice de Dominancia= $\frac{\text{cantidad de IA que dominó}}{\text{cantidad de IA que dominó} + \text{cantidad de IA en que fue dominado}}$

5.3.3. Análisis estadístico

En primer término se determinó si existe una relación entre los resultados obtenidos con diferentes cálculos (valor absoluto vs. valor relativo) para cada sistema de determinación de la jerarquía. Existió una correlación positiva entre el ID obtenido mediante test de alimento calculado con su valor absoluto y relativo ($r= 0,91$; $P< 0,0001$). Por este motivo se tomó como referencia el valor absoluto del test de competencia por alimento, ya que la obtención de los datos resulta más fácil.

Para el cálculo del ID utilizando IA espontáneas (valor relativo), se consideró un resultado significativamente mayor mediante el test binomial, determinándose para cada día la cantidad de IA espontáneas que debió ganar de acuerdo al total de IA registradas para cada pareja.

Una vez seleccionados estos métodos, se determinó si existió una relación entre el ID obtenido mediante la utilización del test de competencia por el alimento y los obtenidos por los otros dos métodos. La relación entre los valores absolutos y relativos de cada método se determinó por regresión lineal simple. Posteriormente se realizaron regresiones lineales entre el ID obtenido por test de competencia por alimento (variable independiente) y los ID obtenidos por test de competencia por una hembra e IA espontáneas (variables dependientes).

Se consideró un $\alpha = 0,05$ y una tendencia estadística $0,05 < P < 0,10$.

5.4. RESULTADOS

5.4.1. Test de Competencia por el Alimento

Se observó una correlación positiva entre los valores de ID individual calculados mediante test de alimento en su valor absoluto y relativo ($r= 0,91$; $P< 0,0001$) (Figura 1). Por tanto, se tomó como referencia el valor absoluto de ID individual obtenido por este método para la comparación frente a las otras 2 metodologías.

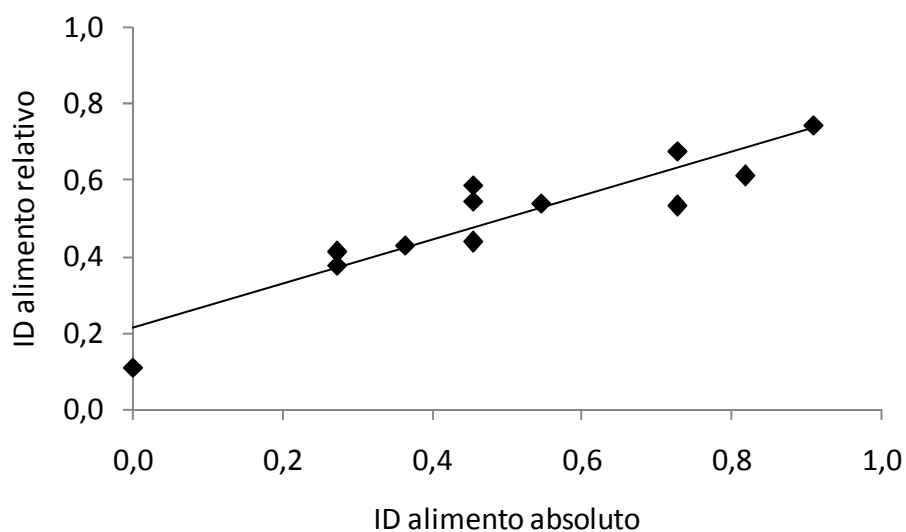


Figura 1. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por alimento durante 5 minutos calculados de forma absoluta (1= dominante y 0= subordinado) y relativa (proporcional al tiempo de acceso al alimento) ($r= 0,91$; $P< 0,0001$).

5.4.2. Test de Competencia por una hembra en celo

Se observó una correlación positiva entre los valores de ID individual calculados mediante test de competencia por una hembra en celo en su valor absoluto y relativo ($r = 0,98$; $P < 0,0000001$) (Figura 2).

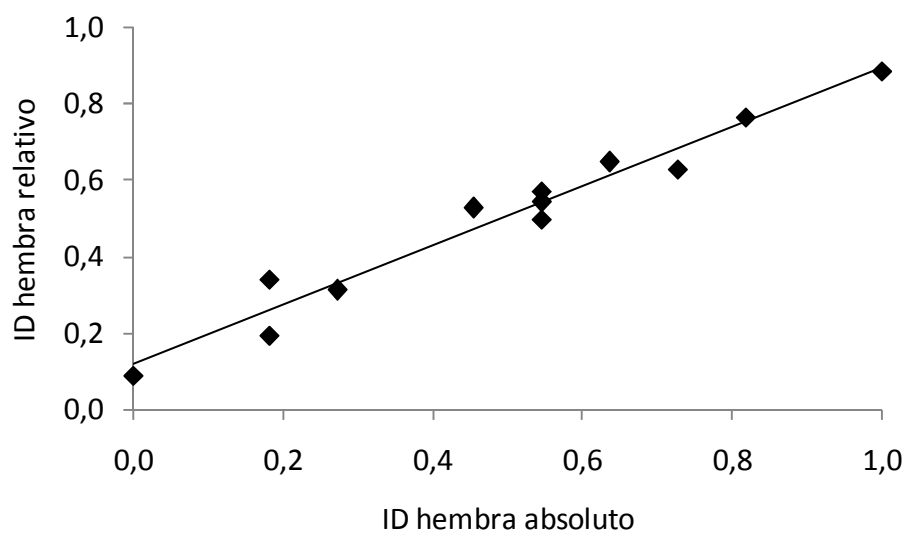


Figura 2. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por una hembra en celo calculados de forma absoluta (1= dominante; 0= subordinado) y relativa (proporcional al tiempo de acceso a la hembra) ($r = 0,98$; $P < 0,0000001$).

5.4.3. Interacciones Agonistas Espontáneas

Se observó una correlación positiva entre los valores de ID individual calculados mediante la utilización de IA espontáneas en función de la cantidad de individuos dominados y su valor relativo que es proporcional a la cantidad de IA que dominó según a la cantidad de IA en que participó ($r=0,85$; $P=0,0006$) (Figura 3).

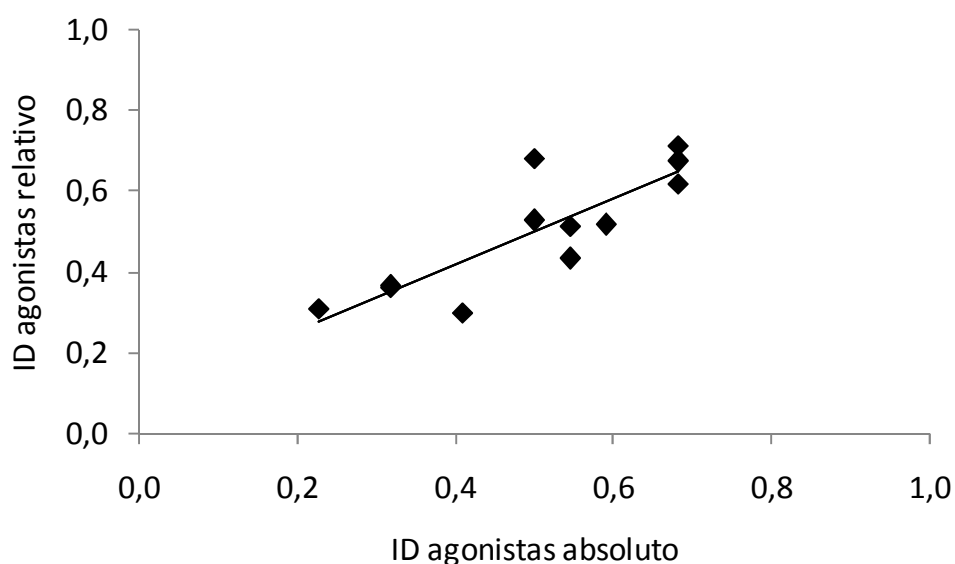


Figura 3. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante la utilización de IA espontáneas calculados de forma absoluta (cantidad de individuos dominados) y relativa (cantidad de IA dominantes de cada individuo) ($r=0,85$; $P=0,0006$).

Dado que se obtuvieron regresiones positivas significativamente altas para los tres métodos entre sus valores absolutos y relativos, se consideró el valor absoluto de cada metodología considerando la facilidad de obtención de los resultados.

5.4.4. Relación entre los ID individual obtenidos por diferentes métodos

No se observó una correlación entre los valores de ID individual obtenidos mediante el test de competencia por el alimento y el test de competencia por una hembra en celo ($r= 0,29$; $P> 0,05$; Figura 4A). Por otra parte, tampoco existió una correlación significativa entre los valores de ID obtenidos por el test de competencia por el alimento y mediante la utilización de IA ($r= 0,12$; $P> 0,05$; Figura 4B).

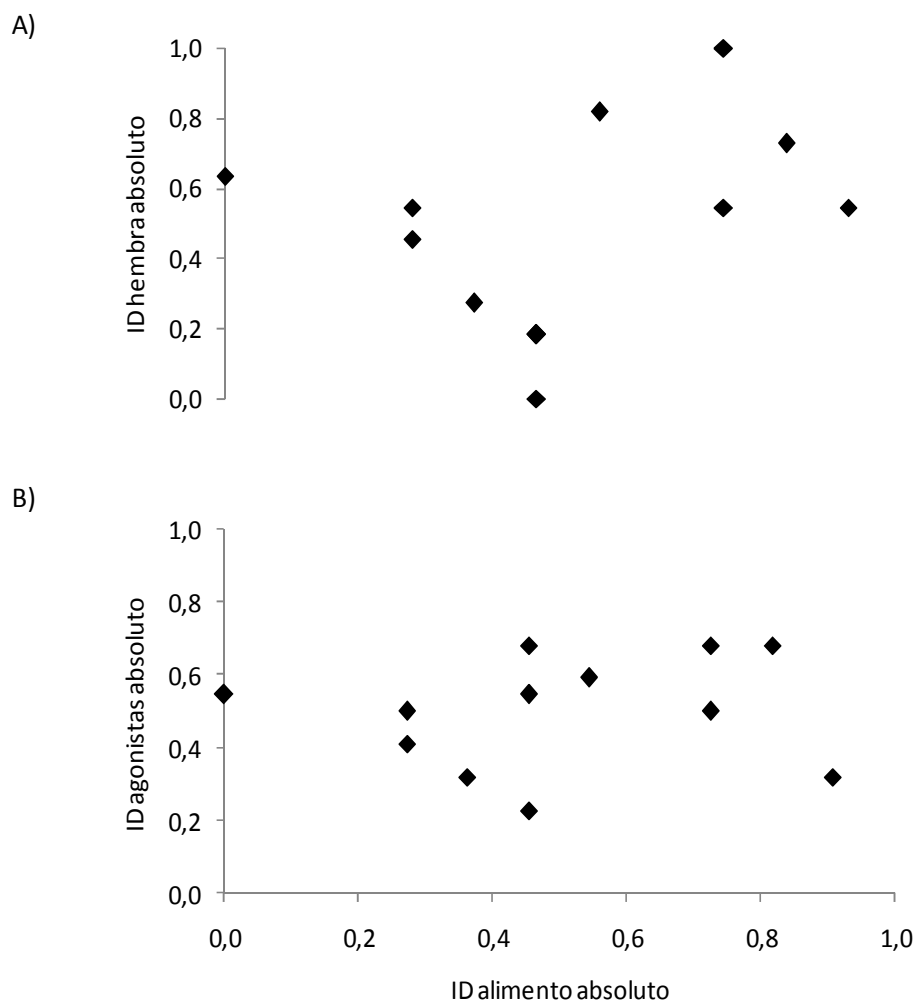


Figura 4. Valores de ID individual obtenidos en carneros mediante test de competencia por el alimento (valor absoluto: 1= dominante; 0= subordinado) y A) valores de ID obtenidos por test de competencia por una hembra en celo (valor absoluto: 1= dominante; 0= subordinado); B) valores de ID obtenidos mediante la utilización de IA espontáneas (valor absoluto: cantidad de individuos dominados) ($P> 0,05$ A y B, respectivamente).

5.5. DISCUSIÓN

Se encontró una correlación entre los ID calculados a partir de valores absolutos y relativos, por lo que se consideraron los valores absolutos para la comparación entre las metodologías. Por tanto, a pesar que el tiempo de acceso al recurso no es absoluto, la mayor proporción de tiempo, representa en forma clara el vínculo entre dos animales. No se observó una correlación entre los ID calculados a partir de los tests de competencia por alimento (tomado como referencia) y las otras dos metodologías. Por tanto, los diferentes métodos seleccionados para la determinación de la jerarquía social en ovinos produjeron diferentes resultados en la posición social obtenida por cada animal. Estos resultados concuerdan con Erhard et al. (1998) y Winfield et al. (1975; citado por Tilbrook y Cameron, 1990) quienes no encontraron una relación entre el rango social obtenido en carneros mediante competencia por alimento y la competencia por hembras. Esto indica que cuando se utiliza la competencia para determinar la jerarquía, la elección del recurso a disputar es un factor determinante del resultado. Otros autores (Lindsay et al., 1976; Tilbrook, 1984) encontraron una relación entre el rango social obtenido mediante competencia por alimento y la competencia por hembras. Por otra parte, en bovinos, Tennessen y Gonyou (1981; citado por Ellard y Crowell-Davis, 1989) no encontraron una correlación entre el rango social obtenido por test de competencia por alimento y el obtenido mediante el registro del comportamiento agresivo. Cuando se utiliza el comportamiento agonista para la determinación de la jerarquía social, el rango obtenido se vincula más a un “orden de agresividad”, siendo el resultado independiente de una situación social particular ya que se calcula a partir del comportamiento de los individuos en el grupo (Langbein y Puppe, 2004). Por otra parte, al utilizar la competencia por recursos, el resultado se vincula a un “orden competitivo”, y se corresponde a un contexto especial (competencia por alimento o hembra), estando los animales aislados del grupo (McGlone 1986; citado por Langbein y Puppe, 2004). Craig (1986) sugirió que durante la competencia por recursos, algunos animales se frustran en gran medida por la privación del mismo, lo que conduce a que su comportamiento durante el test no represente su posición jerárquica. Por esto es de esperar que los resultados que se obtuvieron por competencia por recursos y mediante el uso de IA espontáneas difieran. Wierenga (1990) concluyó que el ID calculado a partir de las IA espontáneas no siempre es un adecuado predictor de la prioridad de acceso a recursos. Por tanto, comparando dichos métodos es de esperar que los resultados entre estas metodologías sean diferentes.

Durante la competencia por recursos, no siempre se observó un ganador absoluto (acceso de un solo individuo al alimento o a la hembra). Sin embargo, considerando los valores proporcionales al tiempo de acceso al recurso, no se encontraron diferencias en la forma de calcular el resultado entre diadas (absoluto vs relativo). El test de competencia por el alimento es un método comúnmente utilizado en la determinación del ID individual (Lindsay et al., 1976; Tilbrook et al., 1987). Este método tiene la ventaja de ser de fácil aplicación, ya que solamente requiere de un ayuno previo para aumentar la motivación de los animales por el alimento. Además,

no requiere de la utilización de una hembra en celo, lo que insume tiempo para su preparación (al menos 10 días de anticipación). Por otra parte, la competencia por el alimento se realiza en 5 minutos/díada, lo que también representa una ventaja práctica. Cuando se utilizó el test de competencia por una hembra en celo, tampoco se observaron diferencias significativas según la forma de cálculo empleada. Dicho test, requiere la utilización de una hembra para el enfrentamiento entre los machos. Una limitante de esta metodología es que los resultados obtenidos, dependen en gran medida de la libido de cada carnero: los carneros de baja libido muestran mayor motivación frente al alimento que frente a una oveja en celo (Erhard et al., 1998). En el mismo sentido, Stellflug et al. (2006) señalaron que el éxito obtenido en los tests de comportamiento sexual por los carneros probablemente se vincule más a su mayor motivación sexual que a su estatus dominante. En especies de reproducción estacional como los ovinos, puede ser una limitante la época del año en que se realiza la evaluación. Si bien los carneros pueden presentar motivación sexual durante todo el año, dicho comportamiento está vinculado a la concentración de hormonas sexuales (testosterona), la que presenta un patrón estacional (Lincoln y Davidson, 1977; Lincoln et al., 1990). Por tanto el ID obtenido por los distintos métodos depende del comportamiento que cada individuo manifieste para la obtención del recurso a disputar, lo que estaría vinculado a la motivación por el mismo. La motivación es sumamente importante cuando se realizan tests que utilizan la competencia por un recurso, ya que la habilidad de lucha de cada animal dependerá de ella. Banks et al. (1979) observaron en aves que la competencia entre los individuos solo se produjo cuando el alimento fue el recurso en disputa. Esto hace que posiblemente la competencia por el alimento sea más adecuada, ya que la motivación por dicho recurso es más homogénea para todas las especies.

El ID individual calculado utilizando las IA espontáneas con su valor absoluto y relativo fue similar. Si bien, existen diferencias en la metodología de ambos cálculos, el resultado final no difiere. Wierenga (1990) observó en vacas una correlación positiva entre el índice de dominancia calculado a partir de los individuos desplazados con el número de desplazamientos realizados por cada animal. Sin embargo, el cálculo a partir de las IA espontáneas tiene algunas desventajas. En un grupo jerárquicamente estable, existe una baja frecuencia de IA. La utilización de IA espontáneas para el cálculo del ID individual requiere de una cantidad de IA suficiente, de forma tal que todos los individuos puedan haber interactuado con sus compañeros de grupo. De esta forma, se logra minimizar la cantidad de días sin un resultado consistente entre los individuos. Landaeta-Hernández et al. (2005) sostuvieron que uno de los motivos de la falta de IA entre algunos individuos, es el reconocimiento por parte de algunos individuos de su estatus subordinado. Es por esto que, mediante este método, en grupos con una jerarquía estable, se hace difícil estimar el ID individual. En el presente experimento, a pesar que el grupo tenía una jerarquía estable, la cantidad de IA espontáneas fueron suficientes para el cálculo del ID aunque demandó mucho tiempo la obtención de los registros. Sin embargo se observó una gran cantidad de interacciones sexuales, las que no fueron consideradas para determinar la jerarquía social. Por otra parte, según Drews (1993) un animal es considerado dominante sobre otro cuando gana significativamente más veces. Esto

lleva a que la consistencia del resultado (ganador/perdedor) deba testarse estadísticamente (test binomial) antes de realizar el cálculo del ID (Lehner, 1996). En conjunto, estos factores conducen a que el cálculo del ID mediante las IA espontáneas sea un método más dificultoso de realizar y posiblemente con resultados dependientes del contexto en que se encuentran los animales.

Debido al vínculo entre el estatus social de un individuo y las características fisiológicas y productivas, es de importancia conocer el tipo de resultados obtenidos mediante los diferentes cálculos del ID individual. Cada uno de ellos produjo diferentes resultados, lo que debería tomarse en cuenta a la hora de vincularlo con fenómenos biológicos.

5.6. CONCLUSIONES

- La forma de calcular el resultado (absoluto vs. relativo) entre díadas que compiten por alimento, hembras en celo, o en forma espontánea proveyeron resultados similares en el ID Individual.
- No existió una relación directa entre los resultados determinados a partir de competencia por alimento, competencia por una hembra en celo e IA espontáneas.

6. EXPERIMENTO II. Efectos del establecimiento de la jerarquía sobre el estrés y el desempeño reproductivo de carneros

6.1. INTRODUCCIÓN

Diversos estresores ambientales pueden alterar la función reproductiva en animales (Lemaire et al., 1997; Ortiz de Montellano, 2004). Durante un episodio de estrés se produce la liberación de glucocorticoides, que interfiere en la actividad reproductiva mediante ciertos mecanismos: *i)* reduce los niveles basales de GnRH, *ii)* reduce la respuesta de las células gonadotropas a la GnRH, *iii)* reduce la cantidad de LH secretada, *iv)* reduce la respuesta de las gónadas a la LH y *v)* reduce la concentración de receptores de LH a nivel gonadal (Álvarez, 2008; Sapolsky et al., 2000; Wingfield y Sapolsky, 2003). Por otra parte, se observó una disminución en la secreción de LH en carneros a los que se les administró ACTH (Matteri et al., 1984). La administración de ACTH causa una reducción de la concentración de LH y testosterona en toros (Johnson et al., 1982) y una supresión en la liberación de LH en respuesta a la GnRH en carneros (Fuquay y Moberg, 1983). Finalmente, en respuesta a una variedad de estresores físicos y fisiológicos se produce una rápida disminución en la concentración de testosterona (Wingfield y Sapolsky, 2003). Además de los cambios en las hormonas reproductivas, frente a situaciones estresantes se producen distintos cambios en parámetros hematológicos que son utilizados como indicadores de estrés.

El reagrupamiento de animales de distinto origen es una práctica común en los sistemas productivos. Dicho manejo genera diversos grados de estrés, ya que debe establecerse o restablecerse una jerarquía social entre los individuos que se juntan (Hurnik et al., 1995). Esta situación puede determinar una disminución en el desempeño productivo individual y un aumento en la frecuencia de comportamientos agresivos en el grupo (Fraser y Rushen, 1987). La propia resolución del vínculo jerárquico es un estresor para los individuos involucrados, y en ocasiones provoca injurias en los animales. El estrés social, común en muchas especies animales, se produce como resultado de la competencia por recursos como el espacio, acceso a una pareja reproductiva, alimento, agua (Tamashiro et al., 2005) o como consecuencia de situaciones como el aislamiento o la exposición a un ambiente nuevo.

El establecimiento de la jerarquía social y el mantenimiento del estatus social individual es física y psicológicamente estresante, ya sea para los individuos que resultan dominantes como para los que resultan subordinados en las interacciones (Tamashiro et al., 2005). Una vez establecido el vínculo dominante-subordinado, éste permanece estable si el ambiente no cambia. Esta situación puede generar consecuencias fisiológicas en los individuos involucrados. Sin embargo, existe

información contrapuesta sobre el efecto de los eventos estresantes sobre la función reproductiva (Lemaire et al., 1997). La secreción de glucocorticoides no siempre se asocia con una disminución en las hormonas reproductivas (testosterona, LH), particularmente durante eventos de estrés agudo (Tilbrook et al., 2000). Thibier y Rolland (1976) observaron en toros un breve aumento en la concentración de testosterona inmediatamente después de la inyección de dexametasona y una posterior disminución de la concentración de ese andrógeno. En cerdas prepúberes, la inyección de cortisol produjo un aumento en la concentración de LH (Pearce et al., 1988). En este sentido, Brisky y Sylvester (1987a, 1987b) observaron en roedores, que la exposición única a un estrés agudo (exposición a un ambiente nuevo y restricción de movimiento) provocó un significativo aumento temporal en la liberación de LH. Ortiz de Montellano (2004) observó que el reagrupamiento de chivos fue una práctica estresante, cuyos efectos fueron altamente dependientes de la posición jerárquica y la experiencia previa de los individuos que se agrupan. Como respuesta al reagrupamiento se produjo un aumento en la concentración de cortisol, leucospermia y una alta incidencia de anomalías espermáticas (Ortiz de Montellano, 2004).

Sin embargo, la activación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal no siempre compromete negativamente el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. En chivos de rango medio, el agrupamiento con machos de rango bajo produjo un aumento en la concentración de testosterona, aunque se observó una disminución de la calidad espermática (Ortiz de Montellano, 2004). Sin embargo, cuando fueron agrupados con chivos de rango alto se produjo una disminución en la concentración de testosterona. Por tanto, si el estrés del establecimiento de la jerarquía produce una disminución en esta hormona, es de esperar que el comportamiento sexual de los machos se vea afectado negativamente.

Por tanto, el establecimiento de la dominancia entre dos individuos puede operar como factor estresante, y por ende repercutir en el desempeño reproductivo de los mismos. Dado estos antecedentes se planteó la *hipótesis que el establecimiento de la jerarquía social, como evento estresante afecta negativamente el desempeño reproductivo de carneros adultos. La disminución en el desempeño reproductivo afecta en mayor medida a los carneros que resultan subordinados.*

6.2. OBJETIVOS

Determinar si luego del establecimiento del vínculo de dominancia entre 2 machos se producen cambios en:

- las variables hematológicas indicadoras de estrés: hematocrito, hemoglobina, fibrinógeno y proteínas totales.
- la concentración sérica de cortisol
- la concentración sérica de testosterona
- el comportamiento sexual frente a una hembra en celo

Determinar si dichos cambios difieren según la posición jerárquica de los carneros.

6.3. MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1. Animales y su manejo

El experimento se realizó en las instalaciones de la Facultad de Agronomía (Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, Nuevo León, México; 25° N) durante la estación reproductiva (setiembre-octubre). Se utilizaron 12 carneros de la raza Saint Croix (2-2,5 años; 67,9 ± 1,6 kg; media ± EE). Dichos animales fueron alojados en encierros individuales (2 X 2 m) durante el mes previo al inicio del experimento. Durante este tiempo fueron acostumbrados al consumo de fardo y ración según requerimientos para mantenimiento. Los encierros individuales estaban dispuestos en forma paralela continua, de forma tal que cada carnero tenía contacto visual con un animal a cada lado. El Día 0 a la hora 0 se juntaron en forma súbita 2 carneros en un corral neutro (corral diferente al ocupado hasta el momento por ambos carneros), y permanecieron juntos durante 17 días. Cada carnero fue alojado con otro carnero desconocido (diferente a sus compañeros de encierro adyacente) y de peso similar, en un corral diferente al ocupado anteriormente por ambos (4 X 2 m). Durante los días -7, 5, 10 y 15 todos los carneros fueron pesados mediante balanza digital.

6.3.2. Determinación de la jerarquía social

Se determinó la posición jerárquica individual mediante el test de competencia por alimento en forma diaria (ya descrito en el Experimento 1). Dichos tests se realizaron 10 veces una vez por día, y se estableció la frecuencia de enfrentamientos ganados y perdidos por cada carnero. Se consideró dominante a los carneros que ganaron al menos 7 de 10 enfrentamientos (test binomial).

6.3.3. Obtención de muestras de sangre y mediciones hormonales

Cortisol

El Día 0 se obtuvieron muestras sanguíneas de todos los carneros, cada 30 min desde el minuto -30 hasta la hora 6, y cada 1 h hasta la hora 12. Una vez obtenidas se las dejó coagular a temperatura ambiente durante 1-2 h, para luego centrifugarlas a 3000 rpm durante 20 min, separándose el suero, el que fue conservado a -20° C. La medición de cortisol se realizó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (Cisbio Bioassays HTRF^R-CORT-CT2, CIS Bio International, Bedford, EEUU). El límite de detección fue de 0,6 nmol/L y el coeficiente de variación intraensayo para los controles altos fue de 6,2 %.

Testosterona

Se obtuvieron muestras sanguíneas por venopunción yugular dos veces por día, a las 8:00 y 17:00 h para medición de testosterona. Dichas muestras fueron tomadas, antes de formarse las parejas (muestra AJ= Día -9 a -1) y diariamente desde el Día 0 hasta el 16. Las muestras fueron manejadas igual que las anteriores, y la concentración de testosterona fue determinada mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG; Count-A-Count, Siemens, Los Angeles, CA, EEUU). El coeficiente de variación intraensayo para los controles altos y bajos fue menor a 5,0 %, y el límite de detección fue de 0,7 nmol/L.

6.3.4. Análisis hematológicos

Se obtuvieron muestras sanguíneas los Días -3, -2, -1, 0, 3, 6, 10, 13 y 16. En dichos días se colectaron muestras de sangre (8:00 am) por animal para la determinación de la concentración de fibrinógeno y la realización de hemograma completo. El fibrinógeno se determinó por la Técnica de Schalm. El hemograma incluyó la determinación de hematocrito (mediante micro-hematocrito), cantidad de hemoglobina (Hemoglobinómetro de Spencer) y proteínas totales (Refractómetro de Goldberg). Todas estas técnicas fueron realizadas en un laboratorio clínico privado.

6.3.5. Comportamiento sexual

La determinación del comportamiento sexual se realizó para cada carnero en los Días -7,-5, -2, 3, 8, 10, 14 y 17. Se colocó un carnero en un corral de 5 X 5 m, con una oveja en celo inducido hormonalmente (5-6 días con esponjas impregnadas con 50 mg de acetato de medroxiprogesterona, e inyecciones de 0,1 mg/kg de benzoato de estradiol cada 12 h y hasta 12 h antes del test). Durante 30 minutos se registró el número de olfateos ano-genitales, flehmen, acercamientos laterales, montas sin eyaculación, montas con eyaculación (ME), y se calculó el rendimiento de montas (ME/montas totales).

6.3.6. Análisis estadístico

Las distintas variables normales se compararon con ANOVA para mediciones repetidas, siendo el tratamiento el rango social obtenido por cada carnero. La concentración de testosterona fue previamente transformada a su raíz cuadrada para su normalización. Para el análisis de la concentración de testosterona se consideró el promedio de los Días -9 a -1 como un valor único anterior a formarse las díadas (muestra AJ). Los valores de la concentración de testosterona am y pm se consideraron como promedio para la obtención de un valor diario único.

Para el análisis de las muestras hematológicas se consideró el promedio de los Días -3, -2 y -1 y se consideró como un valor único anterior a formarse las díadas (muestra AJ). Para el análisis de los datos de comportamiento sexual se consideró el promedio de los Días -7, -5 y -2 y se consideró como un valor único anterior a formarse las díadas (muestra AJ).

Los datos de todas las variables se presentan como media \pm EE. Se consideró un alfa= 0,05 y una tendencia estadística $0,05 < P < 0,10$.

6.4. RESULTADOS

6.4.1. Determinación del rango social

Del total de 12 animales se seleccionaron 5 parejas de machos para el análisis posterior de las variables, ya que en una pareja no fue consistente el resultado de dominante-subordinado.

6.4.2. Peso

No hubo efecto del rango social sobre el peso de los animales, por lo que los datos se presentan agrupados (Figura 5). Sin embargo, el mismo aumentó a los 5 y 10 días, para volver a los valores iniciales a los 15 días ($P < 0,001$).

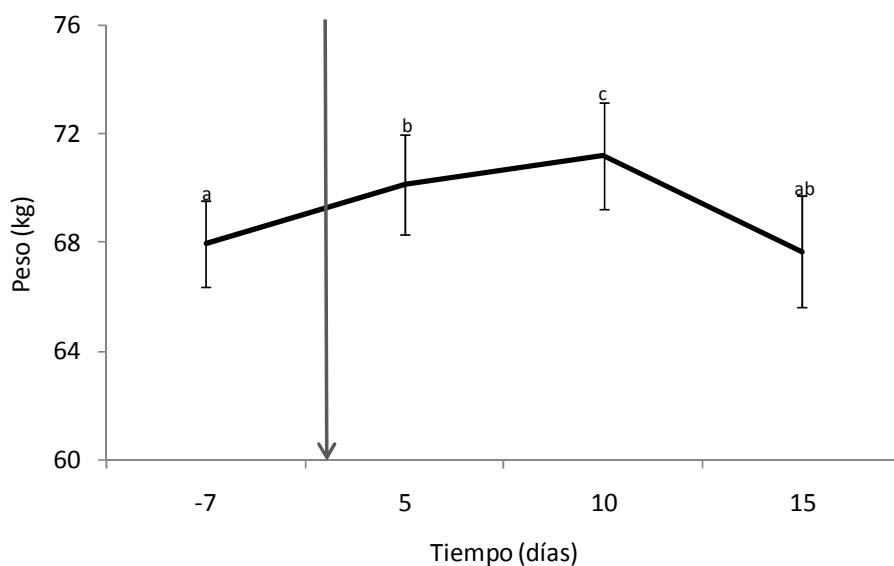


Figura 5. Peso corporal (media \pm EE) de carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados (Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas). Letras diferentes corresponden a diferencias significativas en el tiempo.

6.4.3. Cortisol

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de cortisol de acuerdo al rango jerárquico de los animales por lo que los datos de dominantes y subordinados se presentan agrupados (Figura 6). Se registró un pico máximo a los 30 minutos luego de haber juntado a los animales, regresando la concentración a los valores iniciales a los 150 minutos ($P < 0,0001$).

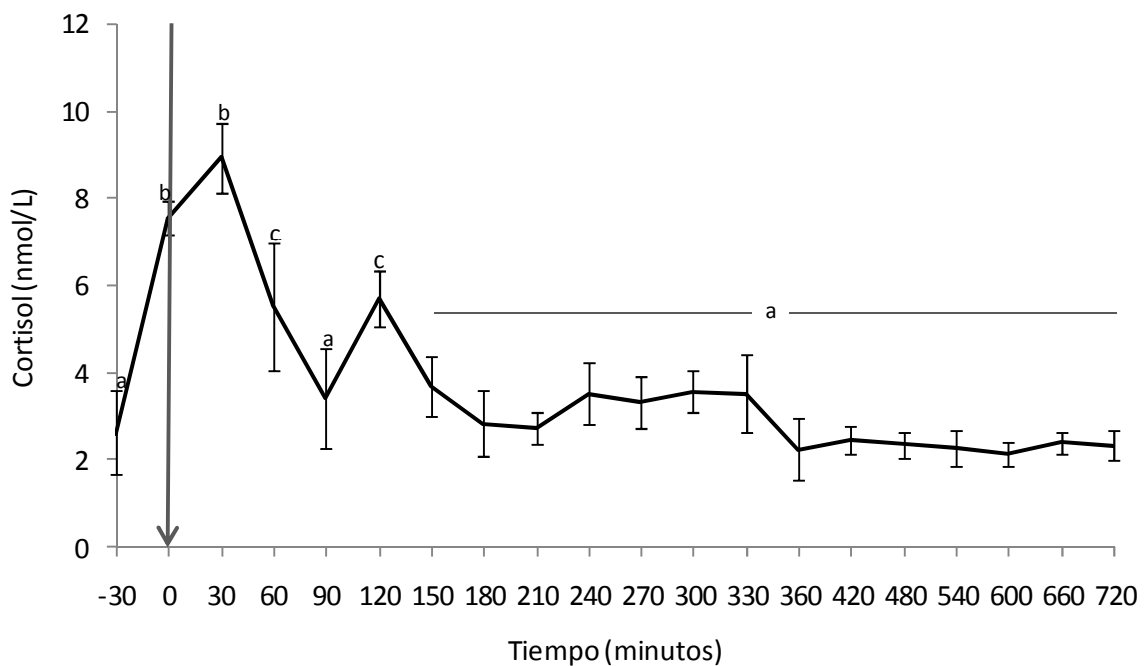


Figura 6. Concentración de cortisol (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados (Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas). Letras diferentes corresponde a diferencias significativas en el tiempo.

6.4.4. Testosterona

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de testosterona según el rango jerárquico resultante en los animales por lo que los datos de dominantes y subordinados se presentan agrupados (Figura 7). Se observó una disminución significativa de la concentración de testosterona a lo largo del tiempo ($P= 0,02$). Se presentan la concentración media diaria (media \pm EE) de los valores obtenidos a las 8:00 y 17:00 hs de todos los individuos del grupo.

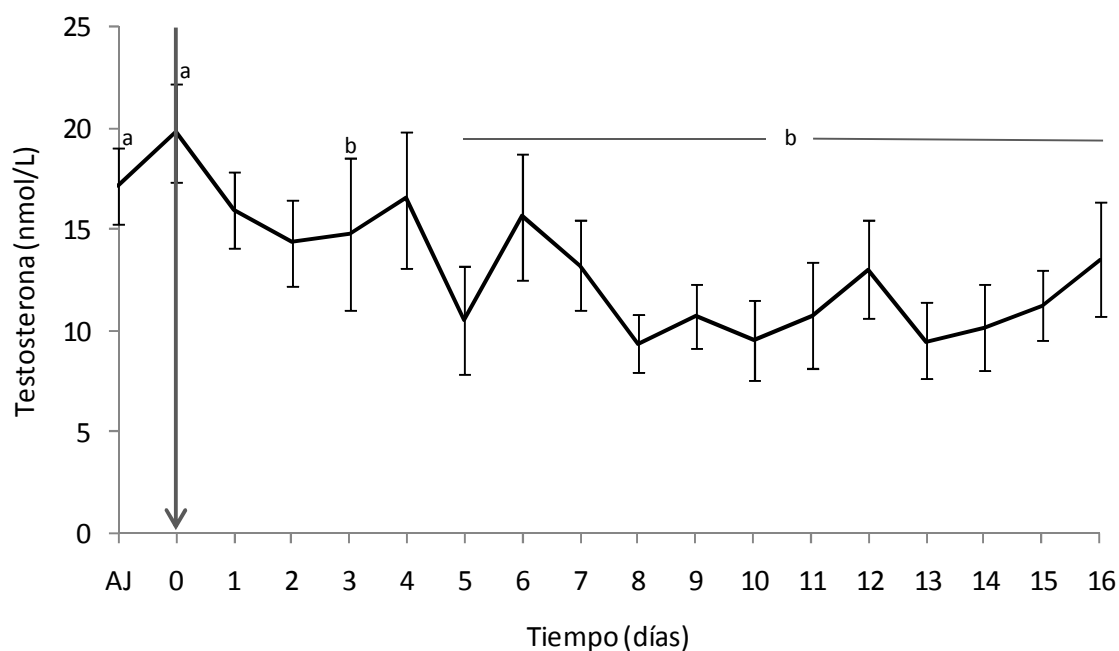


Figura 7. Concentración de testosterona (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados (Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas). Diferentes letras indican diferencias en la concentración de testosterona en relación al Día 0.

6.4.5. Análisis hematológicos

En ninguno de los parámetros hematológicos estudiados se encontró diferencias significativas según el rango jerárquico de los carneros, por lo que los datos se presentan agrupados (Figura 8). Los parámetros hematológicos se modificaron a lo largo del tiempo. El hematocrito disminuyó el Día 0 ($P < 0,001$), y permaneció en dicho rango sin variar durante todo el período experimental (Figura 8A). La hemoglobina disminuyó durante los Días 0, 3 y 6 ($P = 0,006$), regresó a su valor inicial el Día 10 y aumentó significativamente el Día 13 (Figura 8B). La concentración de fibrinógeno alcanzó un pico el Día 3 ($P = 0,006$), pero el Día 6 ya retornó a su valor inicial (Figura 8C). Las proteínas plasmáticas mostraron una tendencia ($P = 0,06$) a modificarse en el tiempo (Figura 8D).

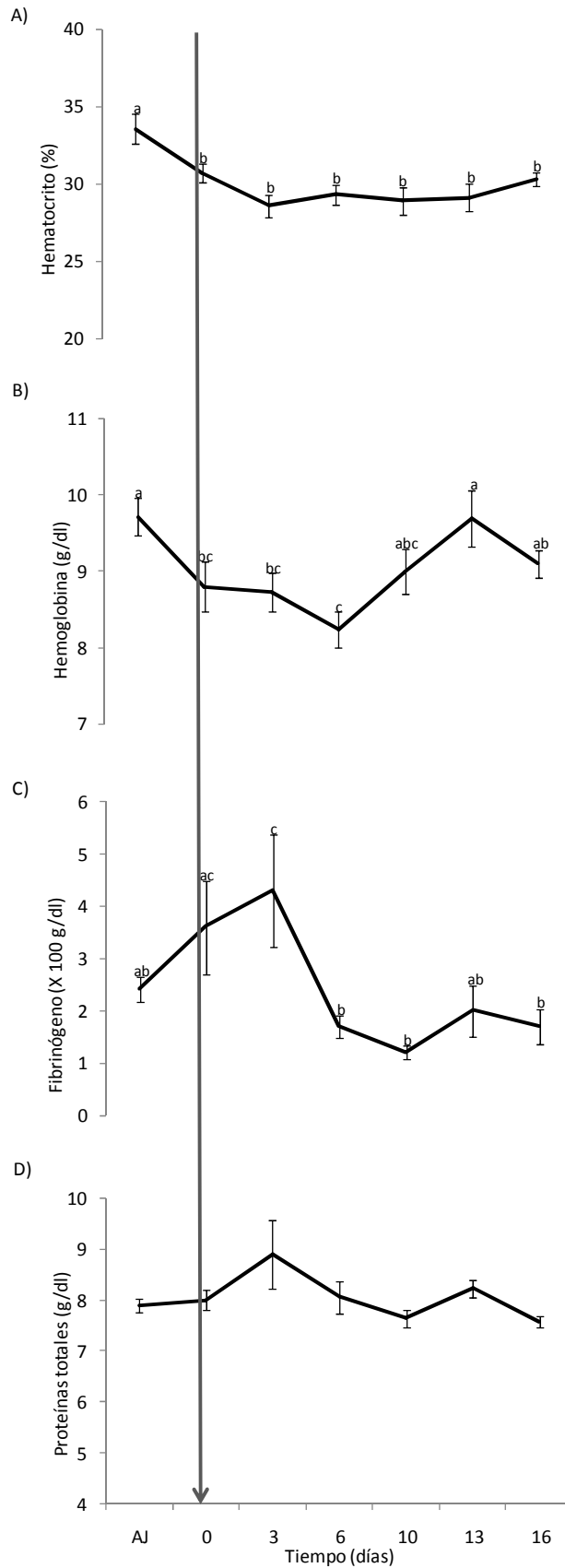


Figura 8. Parámetros hematológicos (media \pm EE) de carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados. A: hematocrito; B: hemoglobina; C: fibrinógeno; D: proteínas totales. El tiempo AJ corresponde al promedio (media \pm EE) de cada parámetro previo a que se juntaran los animales (datos agrupados de dominantes y subordinados). Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas. Letras diferentes corresponde a diferencias significativas en el tiempo.

6.4.6. *Comportamiento sexual*

No hubo efecto del rango social sobre ninguna de las variables comportamentales estudiadas por lo que se presentan los datos de dominantes y subordinados agrupados.

El comportamiento de cortejo (Figura 9) de los machos se modificó a lo largo del tiempo. La cantidad de olfateos y flehmen disminuyeron significativamente el Día 3 ($P= 0,009$ y $P= 0,03$ olfateos y flehmen respectivamente, Figura 9A y 9B). Sin embargo, los acercamientos laterales (Figura 9C) aumentaron al Día 8 ($P= 0,005$) y se observó una tendencia a una interacción entre el rango social y el tiempo ($P= 0,06$). El Día 14 se registro una cantidad de acercamientos laterales similar a la inicial.

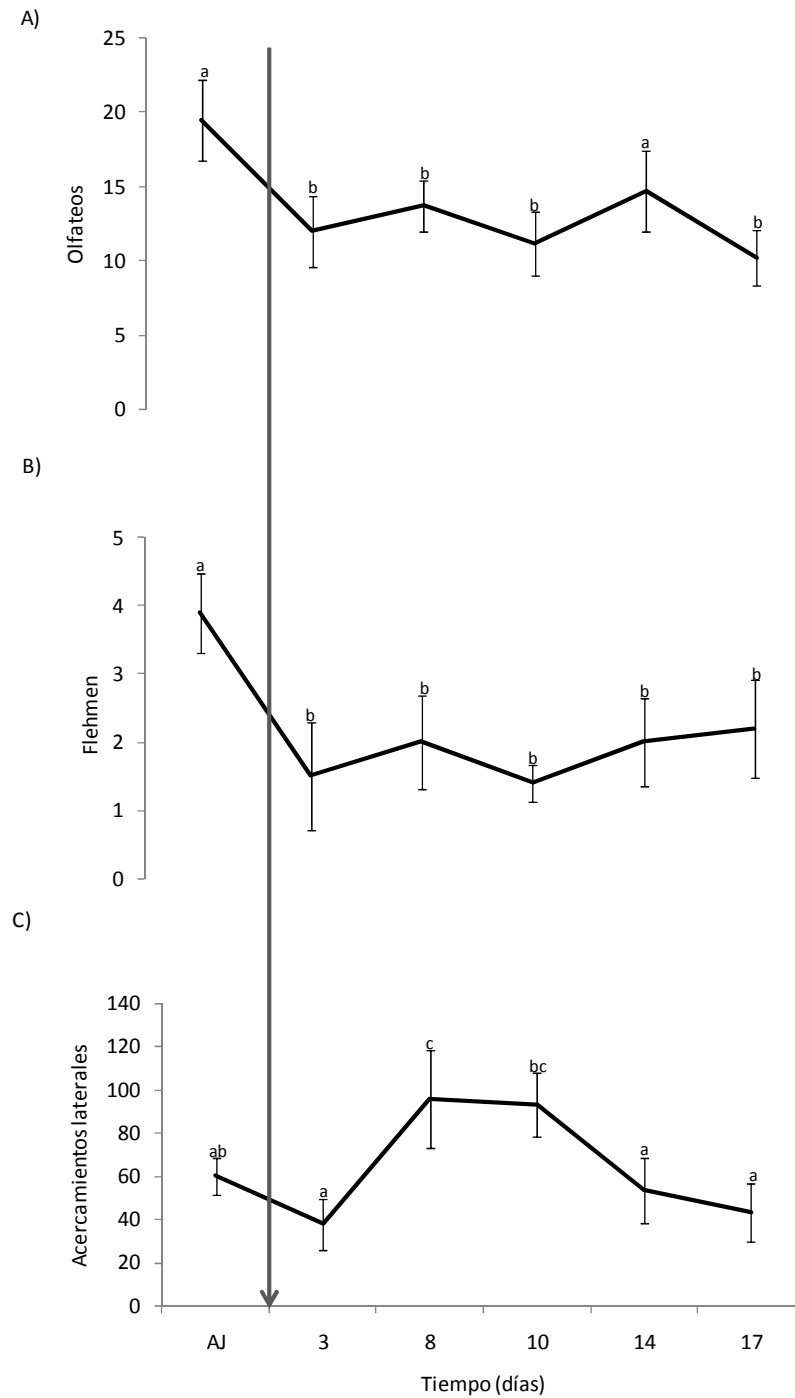


Figura 9. Comportamientos sexuales de cortejo (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados. A: olfateos ano-genitales; B: flehmen; C: acercamientos laterales. El tiempo AJ corresponde al promedio (media \pm EE) de cada parámetro previo a que se juntaran los animales (datos agrupados de dominantes y subordinados). Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas. Letras diferentes corresponde a diferencias significativas en el tiempo.

Los comportamientos sexuales de monta (Figura 10) aumentaron luego de juntar dos carneros. La cantidad de intentos de monta (Figura 10A) y las montas sin eyaculación (Figura 10B) aumentaron significativamente el Día 8 ($P= 0,02$ y $P= 0,008$, intentos de monta y montas sin eyaculación respectivamente) y retornaron a sus valores iniciales el Día 14. Las ME (Figura 10C) alcanzaron su mayor valor el Día 14 ($P= 0,05$). La cantidad de montas totales (montas con y sin eyaculación, Figura 10D) aumentaron significativamente el Día 8 ($P= 0,003$) y retornaron a su valor inicial el Día 14. El rendimiento de montas (Figura 10E) aumentó significativamente el Día 14 ($P= 0,0004$) y se observó una interacción entre el rango social y el tiempo ($P= 0,04$).

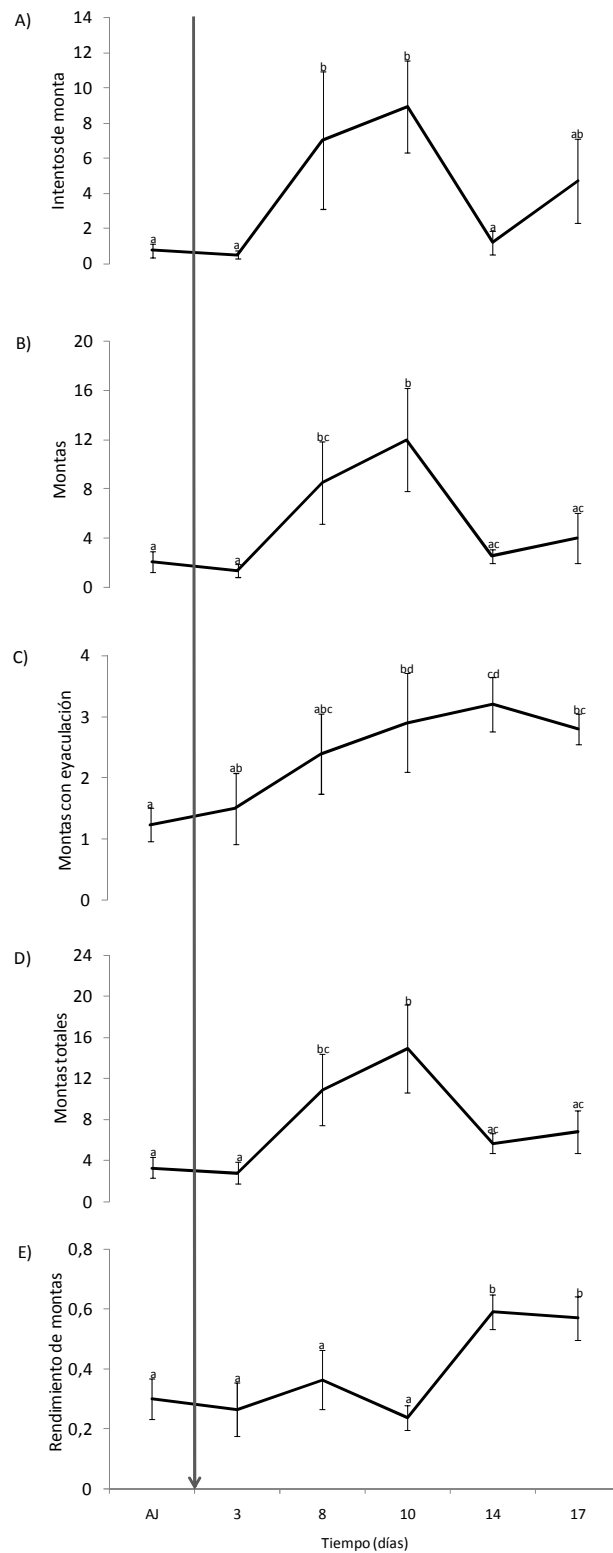


Figura 10. Comportamientos sexuales de monta (media \pm EE) en carneros Saint Croix luego de agrupar de a dos animales que habían permanecido aislados. A: intentos de monta; B: montas; C: montas con eyacuación; D: montas totales; E: rendimiento de montas. El tiempo AJ corresponde al promedio (media \pm EE) de cada parámetro previo a que se juntaran los animales (datos agrupados de dominantes y subordinados). Día 0, indicado por una flecha= día en que se formaron parejas. Letras diferentes corresponde a diferencias significativas en el tiempo.

6.5. DISCUSIÓN

El establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación entre dos carneros fue un evento estresante que afectó los patrones de comportamiento sexual, tanto de los machos dominantes como de los subordinados. Por una parte hubo una disminución de la cantidad de olfateos y flehmen, pero al mismo tiempo se produjo un aumento de la cantidad de acercamientos laterales, intentos de monta, montas, montas con eyaculación y montas totales. Además, se observó un aumento en el rendimiento de montas. De acuerdo a Wingfield y Sapolsky (2003), el estrés inhibe la libido en machos. Sin embargo, en este experimento, en que el estrés fue generado por la inestabilidad social producida por el establecimiento de la jerarquía, se produjo un aumento en el comportamiento sexual de monta frente a una hembra, mientras que la mayoría de los comportamientos de cortejo disminuyeron. Se observó una disminución en frecuencia de las unidades comportamentales vinculadas a la detección de celo (olfateos) y un aumento de las unidades vinculadas directamente a la monta. La evaluación del comportamiento se realizó fuera del corral donde cada macho estaba alojado. Durante las evaluaciones, cada macho se vio liberado de la presión social ejercida por su competidor, manifestando así el máximo despliegue de comportamientos sexuales. Por tanto, este podría ser un comportamiento oportunista ante la posibilidad de acceder a una hembra en celo sin la presencia del otro macho. El patrón de respuesta fue similar en los carneros que resultaron dominantes como en los subordinados, por lo que dicha estrategia no difirió de acuerdo al rango jerárquico. Si bien la presencia de carneros de alto rango jerárquico afecta el comportamiento sexual de carneros de bajo rango (Price, 1987; Tilbrook et al., 1987; Ungerfeld y González-Pensado, 2008b) en el presente experimento, cuando los machos se liberaron de una situación de competencia, manifestaron su máximo despliegue comportamental sexual.

El establecimiento de la jerarquía social entre carneros resultó ser un evento estresante, lo que se evidenció por el aumento en la concentración de cortisol y los cambios hematológicos. A su vez, la respuesta fue independiente de que los carneros resultaran dominantes o subordinados. Esto concuerda con Tamashiro et al. (2005), quienes plantearon que en roedores el establecimiento y mantenimiento de la jerarquía social es un evento psicológica y físicamente estresante tanto para individuos dominantes como subordinados. Arave et al. (1977) no encontraron una relación significativa entre las concentraciones de cortisol plasmático y la posición jerárquica en vacas luego de mezclar animales. Otros cambios hematológicos indicaron la ocurrencia de un evento estresante. El hematocrito tuvo un descenso significativo luego de juntar dos carneros, mientras que se observó un aumento en la concentración de fibrinógeno. Tanto la disminución del hematocrito como el aumento en la concentración de fibrinógeno concuerdan con trabajos realizados previamente (hematocrito: Al-Qarawi y Ali, 2005; Ali et al., 2006; fibrinógeno: Arthington et al., 2003). La concentración de proteínas plasmáticas no tuvo cambios significativos en el tiempo. Sin embargo, las modificaciones de dicho parámetro en situaciones de estrés han producido

resultados diversos (Apple et al., 1993; Nazifi et al., 2003) lo que indicaría que sus modificaciones pueden ser dependientes del tipo de estresor. Estas respuestas en las distintas variables podrían indicar que el establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación representa un evento estresante agudo para los animales involucrados.

Juntar dos carneros produjo una disminución en la concentración de testosterona en forma similar tanto en carneros dominantes como subordinados, la que se mantuvo durante muchos días. La disminución en la concentración de testosterona luego de un evento estresante ha sido reportada en carneros (Damián y Ungerfeld, 2011; Tilbrook et al., 2000; Wingfield y Sapolsky, 2003). En forma similar, Ortiz de Montellano (2004) observó en chivos una disminución en la concentración de testosterona luego de agruparlos con animales de rango mayor. Las hormonas liberadas durante el estrés pueden suprimir a nivel central la liberación de GnRH del hipotálamo (Sapolsky et al., 2000), disminuir la respuesta de la hipófisis anterior a la GnRH, disminuyendo así la liberación de LH y como consecuencia final disminuir la producción de testosterona.

Si bien juntar dos carneros desconocidos afectó negativamente la concentración de testosterona, ésta disminución no afectó el comportamiento sexual frente a una hembra en celo. Lincoln et al. (1972) sostuvieron que la testosterona tiene un rol permisivo en el control del comportamiento sexual por lo que, es esencial para la presentación de dicho comportamiento. Dichos autores sostienen que el comportamiento sexual, una vez establecido es influenciado en menor medida por la testosterona (Lincoln et al., 1972). En ovinos, se requieren concentraciones umbrales mínimas para la expresión del comportamiento sexual (D'Occhio y Brooks, 1982). Durante la estación reproductiva la concentración de testosterona se eleva por encima de los valores basales (Wingfield et al., 1990), lo que favorece el proceso de espermatogénesis y la manifestación de comportamiento sexual. Sin embargo, según Crews (1984; citado por Wingfield et al., 1990), la alta concentración de testosterona y la expresión de algunos comportamientos sexuales pueden disociarse. En carneros adultos se ha reportado que la concentración de testosterona en la circulación sistémica no se asocia a las preferencias sexuales (Roselli et al., 2002) ni al deseo sexual (Alexander et al., 1999). Wingfield et al. (1990) observaron que una alta concentración de testosterona se vincula más al comportamiento agresivo durante la estación reproductiva que al comportamiento sexual. El presente experimento se realizó durante los meses de setiembre-octubre, que corresponden a la estación reproductiva en el hemisferio norte. Posiblemente al haberse realizado durante la estación reproductiva, todos los machos manifestaron un comportamiento sexual acorde al momento reproductivo, y la disminución en la concentración de testosterona no afectó dicho comportamiento. No se observaron diferencias en la manifestación del comportamiento sexual según el rango social de los carneros. Posiblemente el efecto del estrés social sobre el comportamiento sexual en carneros es tan marcado, que las posibles diferencias entre la posición jerárquica queden solapadas por la máxima respuesta manifestada por dominantes y subordinados de la díada.

Luego de juntar dos carneros se produjo un aumento temporario en el peso corporal. Dicho aumento no fue diferente según el rango social al que pertenecían los carneros. En forma general se asume que el estrés social produce una disminución en el peso corporal, el que sería mayor en los individuos subordinados (Nguyen et al., 2007; Tamashiro et al., 2007a, 2005). Por otra parte, los glucocorticoides parecen favorecer la acumulación de tejido adiposo específicamente en la región abdominal (Rebuffé-Scrive et al., 1992). En este sentido se ha propuesto que la activación de los receptores de glucocorticoides promueve un aumento en la expresión de la enzima lipoproteinlipasa (LPL) (Rebuffé-Scrive et al., 1992) la que hidroliza los triacilglicéridos (TAG) en diacilglicéridos y monoglicéridos, hasta liberar ácidos grasos y glicerol. En el tejido adiposo los ácidos grasos son reesterificados y almacenados en forma de TAG. La LPL actúa como un mediador importante en la deposición de TAG en el tejido adiposo (Yamaguchi et al., 2002). En este experimento, tanto dominantes como subordinados presentaron una alta concentración de cortisol durante el Día 0. Estos cambios endócrinos podrían favorecer la deposición grasa, llevando a un aumento en el peso corporal de los carneros. Sin embargo, los vínculos de dominancia-subordinación se establecen durante las primeras horas en que los individuos permanecen juntos. Esto podría provocar que disminuciones agudas en el peso corporal no fueran detectadas, y que el aumento de peso observado represente los efectos posteriores al evento estresante agudo.

6.6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados del presente experimento se concluyó que juntar carneros en forma súbita:

- Generó un estrés importante, reflejado en el aumento de la concentración de cortisol y cambios en los principales parámetros hematológicos indicadores de estrés, que se produjo en forma similar en los carneros que resultaron dominantes y los que resultaron subordinados.
- Produjo una disminución de la concentración de testosterona, la que se mantuvo en concentraciones bajas durante varios días. Dicha disminución fue similar en los carneros que resultaron dominantes y los que resultaron subordinados.
- Condujo a cambios en la actividad reproductiva en carneros en situaciones de no competencia, produciendo un aumento en la cantidad de comportamientos sexuales de monta.

La respuesta del comportamiento sexual frente al establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación fue similar independientemente del rango jerárquico de los carneros.

7. EXPERIMENTO III. Influencia de la jerarquía social durante el desarrollo prepuberal sobre el desempeño reproductivo de carneros adultos (Publicación I)

7.1. INTRODUCCIÓN

En varios experimentos se ha demostrado que el ambiente social en que son criados los machos influye sobre su capacidad reproductiva cuando son adultos. El comportamiento sexual en carneros puede ser influenciado por experiencias sexuales tempranas. El sistema de cría de los grupos de corderos puede determinar en estos, bajos niveles de actividad sexual o actividad homosexual (Tilbrook y Cameron, 1990). Welch (1972; citado por Zenchak y Anderson, 1980) reportó que solamente el 30% de los carneros criados en grupos de machos montaron exitosamente a hembras cuando fueron adultos, mientras que el 82% de los carneros que fueron criados con machos y hembras montaron en forma exitosa. En corderos prepúberes, la exposición temprana a ovejas en celo es un estímulo positivo para el desarrollo del comportamiento sexual (Price et al., 1996). Además se ha reportado que en carneros jóvenes, una o dos exposiciones breves a hembras en celo estimulan un aumento del desempeño sexual comparable al registrado en animales adultos (Price et al., 1991).

Sin embargo, el ambiente social prepuberal no está conformado exclusivamente por hembras, sino también por otros machos. Los individuos de distintos estratos sociales tienen acceso diferencial a los recursos, como pueden ser individuos del sexo opuesto. Carneros adultos de bajo rango social tienen un acceso limitado a hembras en celo (Preston et al., 2003), ya que los machos de alto rango social pueden inhibir el comportamiento sexual de los de bajo rango (Price, 1987; Ungerfeld y González-Pensado, 2008b).

Se ha reportado que el rango jerárquico afecta el desarrollo reproductivo de los corderos durante la etapa prepuberal. Los corderos de alto rango jerárquico maduran en forma más precoz que los de bajo rango (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a). El tamaño testicular, las características seminales y el despliegue de comportamiento sexual de los corderos de alto rango aumentan más tempranamente que las de corderos de bajo rango (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a). Sin embargo, aún no se ha determinado si la jerarquía social que existe durante el desarrollo de los corderos afecta la capacidad reproductiva de los mismos cuando llegan a la edad adulta. Dados estos antecedentes se planteó la *hipótesis de que la posición jerárquica que ocuparon los carneros durante el desarrollo prepuberal afecta su desempeño reproductivo durante su vida adulta.*

7.2. OBJETIVOS

Determinar si existen diferencias en el peso, las características seminales y el comportamiento sexual de carneros adultos, de acuerdo a la posición jerárquica que tuvieron durante el período prepuberal.

7.3. MATERIALES Y MÉTODOS

7.3.1. Animales y su manejo

El experimento se realizó en el Departamento de Fisiología, con los mismos carneros utilizados en Ungerfeld y González-Pensado (2008a). Dichos carneros (n= 10) fueron testados en 2 ensayos a la edad de 1,5 y 2,5 años, durante la estación reproductiva correspondiente a cada año (primer y segundo ensayo: febrero-junio y febrero-abril, respectivamente). Durante dichos períodos se les controló el peso y circunferencia escrotal semanalmente, y se realizaron evaluaciones seminales, test de comportamiento sexual frente a una hembra en celo y determinación de las concentraciones de testosterona sérica.

7.3.2. Determinación de la jerarquía social

La jerarquía social se determinó en las dos estaciones reproductivas mediante test de competencia por alimento (ya descrito en el Experimento 1).

7.3.3. Colección y evaluación seminal

La recolección de semen se realizó por electroeyaculación en forma quincenal. Para ello se exteriorizó el pene del macho y se colocó en el extremo un tubo de colecta de semen previamente calentado a 37° en baño maría. La estimulación eléctrica se aplicó por intervalos de 3-5 s, que se alternaron con períodos de descanso de duración similar. Una vez obtenida la muestra seminal se determinó el volumen, la motilidad de masa (rango 1-5), la motilidad individual, la cantidad total de espermatozoides en el eyaculado, y el porcentaje de espermatozoides con morfología normal según Evans y Maxwell (1987).

7.3.4. Comportamiento sexual

La determinación del comportamiento sexual se realizó para cada carnero en forma quincenal. Se colocó un carnero en un corral conocido (5 X 5 m) con una oveja en celo inducido hormonalmente (5-6 días con esponjas impregnadas con 50 mg de acetato de medroxiprogesterona, e inyecciones de 0,1 mg/kg de benzoato de estradiol cada 12 h y hasta 12 h antes del test), y se determinó durante 30 minutos el tiempo dedicado al cortejo de la hembra. Durante ese tiempo se registró el número de olfateos ano-genitales, flehmen, acercamientos laterales, montas sin eyaculación, montas con eyaculación, tiempo de inicio de cortejo y tiempo a la primera monta con eyaculación, y se calculó el rendimiento de montas.

7.3.5. Obtención de muestras de sangre y mediciones hormonales

Las muestras sanguíneas se obtuvieron semanalmente durante la primera estación reproductiva, mediante venopunción yugular. Una vez obtenidas se las dejó coagular a temperatura ambiente durante 1-2 h, para luego centrifugarlas a 3000 rpm durante 20 min, separándose el suero, el que fue conservado a -20° C. La concentración de testosterona se determinó mediante radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG; Count-A-Count, Siemens, Los Angeles, CA, EEUU). El coeficiente de variación intraensayo para los controles altos fue de 7,1 % y 5,0 %, y para los controles bajos fue de 6,6 % y 6,5 %. El coeficiente de variación interensayo para los controles altos y bajos fue de 6,7 % y 9,5 % respectivamente. El límite de detección fue de 0,5 nmol/L.

7.3.6. Análisis estadístico

Las distintas variables fueron comparadas con un ANOVA jerárquico, de acuerdo al rango jerárquico que tuviera el carnero durante su etapa de desarrollo (alto y bajo rango jerárquico prepuberal, AR y BR, respectivamente). Se tomó al carnero como unidad experimental, y se consideró los valores obtenidos en cada ocasión como subconjunto de datos que generó el resultado individual.

Los datos de todas las variables se presentan como media \pm EE. Se consideró un alfa= 0,05 y una tendencia estadística $0,05 < P < 0,10$.

7.4. RESULTADOS

7.4.1. Primer ensayo (carneros juveniles: 1,5 años)

El ID individual de los carneros AR ($0,55 \pm 0,10$) y BR ($0,45 \pm 0,16$) no fue significativamente diferente. Los carneros AR fueron más pesados que los BR ($69,4 \pm 3,0$ vs. $62,9 \pm 2,7$ kg, $P < 0,0001$, AR y BR respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en la circunferencia escrotal ($31,8 \pm 1,0$ vs. $31,4 \pm 0,9$ cm, AR y BR respectivamente), ni en la concentración de testosterona ($19,4 \pm 6,0$ vs. $17,8 \pm 7,9$ nmol/L, AR y BR respectivamente).

7.4.2. Evaluación seminal

Las características seminales de los carneros AR y BR en el primer ensayo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características seminales de carneros de 1,5 años según la posición jerárquica prepuberal (AR= 5; BR= 5).

Características seminales	BR	AR	P
Volumen (mL)	$0,5 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,1$	0,004
Motilidad de masa	$2,9 \pm 0,2$	$3,1 \pm 0,2$	ns
Motilidad individual (%)	$71,9 \pm 11,3$	$79,9 \pm 3,9$	ns
Total spz ($\times 10^6$)*	2482 ± 503	2968 ± 331	ns
Spz con anormalidades (%)	$9,6 \pm 2,3$	$14,0 \pm 1,8$	0,07

Spz: espermatozoides; *total de espermatozoides en el eyaculado.

7.4.3. Comportamiento sexual

El comportamiento de cortejo fue más frecuente para carneros BR que AR (acercamientos laterales y flehmen; $P = 0,001$ y $0,01$, respectivamente), sin embargo la actividad de monta (intentos de monta y montas) fue más frecuente para carneros AR ($P = 0,04$ y $0,005$, respectivamente). El comportamiento sexual frente a una hembra en celo a los 1,5 años se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Comportamiento sexual de carneros de 1,5 años según la posición jerárquica prepuberal (AR= 5; BR= 5).

Comportamiento sexual	BR	AR	P
Tiempo de inicio de cortejo (s)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	ns
Olfateo ano-genital	23,1 ± 1,3	21,9 ± 1,5	ns
Flehmen	3,8 ± 0,4	2,6 ± 0,4	0,01
Acercamientos laterales	101,4 ± 7,3	75,9 ± 5,8	0,001
Intentos de monta	4,6 ± 0,8	6,8 ± 0,9	0,04
Montas	6,2 ± 0,9	10,1 ± 1,2	0,005
Montas con eyaculación (ME)	2,6 ± 0,3	2,6 ± 0,3	ns
Rendimiento de montas (ME/Total de montas)	0,3 ± 0,03	0,2 ± 0,03	0,08
Tiempo a la primera ME (s)	168,8 ± 45,6	172,2 ± 58,6	ns

7.4.4. Segundo ensayo (carneros adultos: 2,5 años)

El ID individual de los carneros AR ($0,55 \pm 0,14$) y BR ($0,42 \pm 0,07$) no fue significativamente diferente. Carneros AR tendieron a pesar más que los BR ($85,9 \pm 2,4$ vs. $83,3 \pm 2,0$ kg, $P= 0,09$, AR y BR respectivamente). Los carneros AR tuvieron menor circunferencia escrotal ($36,5 \pm 0,6$ vs. $37,5 \pm 0,2$ cm, $P= 0,045$, AR y BR respectivamente) que carneros BR.

7.4.5. Evaluación seminal

Las características seminales de los carneros AR y BR en el segundo ensayo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Características seminales de carneros de 2,5 años según la posición jerárquica prepuberal (AR= 5; BR= 4).

Características seminales	BR	AR	P
Volumen (mL)	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	ns
Motilidad de masa	3,3 ± 0,3	2,8 ± 0,2	0,08
Motilidad individual (%)	68,6 ± 4,7	64,8 ± 3,6	ns
Total spz ($\times 10^6$)*	1700 ± 246	2371 ± 441	ns
Spz con anomalías (%)	21,1 ± 3,5	18,9 ± 2,0	ns

Spz: espermatozoides; *total de espermatozoides en el eyaculado.

7.4.6. Comportamiento sexual

Existieron diferencias significativas en el comportamiento sexual entre los carneros AR y BR. El comportamiento de cortejo de los carneros BR fue más frecuente que el de los AR (acercamientos laterales $P < 0,001$; flehmen $P = 0,03$). Los carneros BR realizaron más montas con eyaculación ($P = 0,007$) y mostraron una tendencia a un mayor rendimiento de montas ($P = 0,08$). Sin embargo los carneros AR realizaron más intentos de monta ($P = 0,02$). El comportamiento sexual frente a una hembra en celo a los 2,5 años se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Comportamiento sexual de carneros de 2,5 años según la posición jerárquica prepuberal (AR= 5; BR= 4).

Comportamiento sexual	BR	AR	P
Tiempo de inicio de cortejo (s)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	ns
Olfateo ano-genital	10,8 ± 1,4	9,0 ± 1,4	ns
Flehmen	3,2 ± 0,7	1,7 ± 0,4	0,03
Acercamientos laterales	112,5 ± 8,7	74,0 ± 6,5	<0,001
Intentos de monta	6,9 ± 1,7	13,0 ± 2,2	0,02
Montas	4,8 ± 1,1	4,3 ± 0,8	ns
Montas con eyaculación (ME)	2,8 ± 0,3	1,7 ± 0,3	0,007
Rendimiento de montas (ME/Total de montas)	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,08
Tiempo a la primera ME (s)	205 ± 75	328 ± 98	ns

7.5. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados de este experimento se sugiere que el desempeño reproductivo de carneros adultos está influenciado por el rango social prepuberal. Esto se vio reflejado principalmente en las diferencias encontradas en el comportamiento sexual manifestado a los 1,5 y 2,5 años, lo que coincide con el concepto de que algunas características del ambiente social prepuberal influyen en la capacidad reproductiva de los machos adultos. La presencia de hembras durante el desarrollo estimula un aumento del desempeño sexual de los machos en la etapa adulta (Price et al., 1991; Zenchak y Anderson, 1980). Ungerfeld y González-Pensado (2008a) sostuvieron que el desarrollo reproductivo en corderos se afecta por el rango social que ocupan en dicha etapa. De acuerdo a los presentes resultados, el rango social prepuberal también afecta algunos aspectos del comportamiento sexual cuando los carneros son adultos. En este sentido, los carneros con menor rango social prepuberal cortejaron más, aunque se aparearon menos que los de AR prepuberal. Aun a los 2,5 años de edad, los carneros BR mostraron mayor frecuencia de unidades sexuales de cortejo que los carneros AR.

El rango social durante el desarrollo prepuberal de los corderos afectó el desempeño reproductivo de los carneros adultos. Sin embargo, a pesar que el desempeño reproductivo en corderos fue claramente mejor en los AR (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a), ese resultado no se mantuvo en la edad adulta. La frecuencia de comportamientos de cortejo fue mayor en carneros BR en las dos estaciones reproductivas. Esto es similar a lo observado en carneros adultos: cuando fueron testados solos, los carneros AR efectuaron menos comportamientos de cortejo que los BR (Ungerfeld y González-Pensado, 2008b). Los presentes resultados indican que la estrategia reproductiva que determina el acceso diferencial a hembras es afectada por el rango social que tienen los animales en etapas tempranas de su vida. Las diferencias en las unidades de cortejo se mantuvieron a pesar de que el rango social no fue diferente entre carneros AR y BR a los 1,5 y 2,5 años. Sin embargo, la actividad de monta y el rendimiento de montas se modificaron en el tiempo, sugiriendo que este podría ser un comportamiento más flexible y que los carneros pueden adaptarse con la edad.

No existieron diferencias significativas en la concentración sérica de testosterona según el rango social. Esto concuerda con Illius et al. (1976b), quienes reportaron que los patrones de testosterona en carneros hasta los 21 meses no se modifica por el ambiente social (aislamiento, grupos homo o heterosexuales) y con Kridli y Al-Yacoub (2006) quienes observaron que el ambiente sexual en que son criados los corderos (con o sin hembras) no modifica la concentración de testosterona de los mismos. En carneros adultos (Perkins y Fitzgerald, 1994) y en corderos (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a) se observaron concentraciones de testosterona similares en machos que mostraron mayor y menor frecuencia de comportamiento sexual frente a hembras.

Pelletier et al. (2003) reportaron una relación entre el rango social y la producción de testosterona, pero esa diferencia no se detectó cuando se incluyó la edad en el modelo. Como en este experimento los carneros nacieron la misma semana, los efectos de la edad en el rango social, y por lo tanto en la secreción de testosterona no pudieron ser detectados. Por esto, las diferencias en el comportamiento sexual observadas no se relacionaron con una mayor producción de testosterona, aunque si pudieran vincularse a diferencias en la sensibilidad a la testosterona, determinando que con concentraciones de testosterona similares algunos machos desplieguen mejor comportamiento sexual y tengan mayor capacidad de servicio.

No se observaron diferencias importantes en la producción de semen según el rango social de la etapa prepuberal. Aguirre et al. (2007) reportaron un mayor volumen seminal y concentración espermática en carneros de AR, aunque los carneros fueron evaluados en pequeños grupos, donde los efectos de la jerarquía pudieron ser más intensos. En el presente experimento, solo se registraron los efectos que la jerarquía durante la etapa prepuberal tuvo a largo plazo. Preston et al. (2001) observaron en carneros salvajes que los machos con alta cantidad de cópulas presentaron menor cantidad de espermatozoides por eyaculado. Esta menor cantidad de espermatozoides podría justamente deberse a la alta tasa de eyaculación, como se observa en carneros domésticos (Thwaites, 1994). Sin embargo, en el presente experimento, los carneros solo se aparearon durante los tests sexuales, por lo que su actividad sexual no tuvo una influencia directa en las características seminales. A pesar de que el rango jerárquico (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a) o la presencia de hembras (Casteilla et al., 1987) adelanten la producción de semen en corderos prepúberes, el rango social en dicha etapa no tuvo consecuencias en la calidad seminal de machos adultos.

Los carneros AR tuvieron mayor peso corporal que los BR a los 1,5 años, aunque solo se observó una tendencia a los 2,5 años. Por otra parte, en la etapa prepuberal, los corderos AR tuvieron mayor peso corporal que los BR (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a). Esto concuerda con investigaciones previas en que el peso corporal difirió de acuerdo al rango social en corderos (Ungerfeld y González-Pensado, 2008a), pero no así en carneros adultos (Ungerfeld y González-Pensado, 2008b). Una posible explicación a la falta de diferencia es que a pesar que la masa corporal se vincula al rango social en carneros salvajes adultos (Pelletier y Festa-Bianchet, 2006), el proceso de domesticación implica una menor presión para los animales ya que dicho proceso implica que los animales empleen menos tiempo y energía para acceder al alimento, le provee protección contra predadores, salud y bienestar (Price, 2002). Debería considerarse que durante el primer ensayo los carneros tenían 1,5 años, por lo que solo habían alcanzado un 75-80 % de su peso corporal adulto. A pesar que la tasa de crecimiento fue menor en carneros BR, posiblemente un periodo de crecimiento mayor les permitió compensar su crecimiento al llegar a la etapa adulta. Festa-Bianchet et al. (2000) observaron que la masa corporal de corderos no se correlacionó con su peso adulto. Los resultados del presente experimento indican que el rango social y el peso corporal

en ovinos está posiblemente más vinculado durante el desarrollo prepuberal que en la etapa adulta.

7.6. CONCLUSIONES

A partir de los resultados del presente experimento se concluyó que:

- Los comportamientos sexuales de cortejo de carneros adultos se vincularon al rango social prepuberal.
- La producción seminal no se vinculó al rango social prepuberal en carneros adultos.
- El peso corporal de carneros se vinculó al rango social prepuberal a los 1,5 años aunque este efecto no se mantuvo a los 2,5 años.

8. DISCUSIÓN GENERAL

Los diferentes métodos de calcular la posición jerárquica produjeron diferencias en el ID individual (Experimento I). Dada la importancia de la jerarquía social tanto en la reproducción como en otras características productivas es relevante tener presente estas diferencias. Dichos métodos utilizan las IA espontáneas o la utilización de la competencia por distintos recursos. Por otra parte, el ID individual calculado para cada individuo varió según el recurso que se utilizó en la competencia. Esto indica que frente a distintos recursos los animales presentan mayor o menor motivación, lo que determina un mayor o menor interés por el acceso y por tanto altera el resultado del enfrentamiento. Esta situación puede determinar diferencias en la posición jerárquica obtenida de acuerdo al método utilizado para la evaluación.

El establecimiento de la jerarquía social en carneros adultos (Experimento II) produjo cambios en el patrón de comportamiento sexual frente a una hembra en celo en situaciones no competitivas. Dichos cambios se evidenciaron por el aumento en la frecuencia de los comportamientos sexuales de monta. Sin embargo, la frecuencia de la mayoría de los comportamientos de cortejo disminuyó. Estas modificaciones no fueron diferentes según el estatus social alcanzado por cada individuo (dominante vs. subordinado). El establecimiento de las relaciones de dominancia-subordinación fue un evento estresante para los machos involucrados, lo que se manifestó con un aumento en la concentración de cortisol y la modificación de los principales parámetros hematológicos indicadores de estrés. Además, se produjo una disminución en la concentración de testosterona, la que podría ser consecuencia del aumento de la secreción de glucocorticoides. Por tanto, si bien el establecimiento de la jerarquía social es un evento estresante, durante la evaluación del comportamiento sexual, cada macho se vio liberado de la presión social ejercida por su competidor, manifestando así el máximo despliegue de comportamientos sexuales. Este podría ser un comportamiento oportunista ante la posibilidad de acceder a una hembra en celo sin la presencia del otro macho.

La posición jerárquica alcanzada en la etapa prepuberal afectó los patrones de comportamiento sexual en carneros. Esto se evidenció en el Experimento III, en que la posición jerárquica alcanzada en la etapa prepuberal determinó diferencias en el comportamiento sexual durante la etapa adulta. Ungerfeld y González-Pensado (2008a) observaron que corderos AR maduran sexualmente antes que los BR. Según los resultados obtenidos en el Experimento III, en la etapa adulta también existen diferencias en el desempeño reproductivo adulto de acuerdo a la jerarquía prepuberal. Los carneros BR mostraron mayor frecuencia de comportamientos de cortejo frente a una hembra a los 1,5 y 2,5 años. Por otra parte, a los 2,5 años las montas con eyaculación y el rendimiento de montas también fueron mayores en carneros BR, por lo que cabe especular que estos comportamientos son más flexibles en el tiempo. Sin embargo, no se observaron diferencias

en la concentración de testosterona según el rango social, por lo que no se comprobó que los cambios en el comportamiento sexual se vincularan a la concentración de la misma.

9. CONCLUSIONES GENERALES

- El Índice de Dominancia Individual calculado para cada carnero varió de acuerdo a la metodología utilizada. No se observó una relación directa entre los resultados obtenidos a partir de tests de competencia, ya sea por el alimento o por una hembra en celo o a través del registro de las interacciones agonistas espontáneas.
- El establecimiento de la jerarquía social fue un evento estresante, y produjo un cambio en el patrón de comportamiento sexual frente a una hembra en celo. Se observó un aumento en la frecuencia de las unidades sexuales de monta frente a una hembra en celo en una situación no competitiva, independientemente del estatus social alcanzado.
- La posición jerárquica prepuberal determinó diferencias en el desempeño reproductivo en carneros adultos. Los carneros con menor rango social prepuberal cortejaron más aunque se aparearon menos que los de alto rango social prepuberal.

10. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Adeymo, O., Heath, E., 1982. Social behaviour and adrenal cortical activity in heifers. *Appl. Anim. Ethol.* 8, 99-108.
- 2 Aguirre, V., Orihuela, A., Vázquez, R., 2007. Seasonal variations in sexual behavior, testosterone, testicular size and semen characteristics, as affected by social dominance, of tropical hair ram (*Ovis aries*). *Anim. Sci. J.* 78, 417-423.
- 3 Al-Qarawi, A. A.; Ali, B. H., 2005. Isolation stress in Desert sheep and goats and the influence of pretreatment with xylazine or sodium betaine. *Vet. Res. Com.* 29 (1), 81-90.
- 4 Alexander, B. M., Stellflug, J. N., Rose, J. D., Fitzgerald, J. A., Moss, G. E., 1999. Behavior and endocrine changes in high-performing, low-performing, and male-oriented domestic rams following exposure to rams and ewes in estrus when copulation is precluded. *J. Anim. Sci.* 77, 1869-1874.
- 5 Ali, B. H., Al-Qarawi, A. A., Mousa, H. M., 2006. Stress associated with road transportation in desert sheep and goats, and the effect of pretreatment with xylazine or sodium betaine. *Res. Vet. Sci.* 80, 343-348.
- 6 Alley, J. C.; Fordham, R. A., 1994. Social events following the introduction of unfamiliar does to a captive feral goat (*Capra hircus* L.) herd. *S. Rum. Res.* 13, 103-107.
- 7 Álvarez, L., 2008. Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. *Arch. Zootec.* 57, 39-57.
- 8 Álvarez, L., Martín, G. B., Galindo, F., Zarco, L. A., 2003. Social dominance of female goats affects their response to the male effect. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 84, 119-126.
- 9 Andersen, I. L., Bøe, K. E., Hove, K., 2000. Behavioral and physiological thermoregulation in groups of pregnant sows housed in a kennel system at low temperatures. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 1-8.
- 10 Andersen, I. L., Bøe, K. E., 2007. Resting pattern and social interactions in goats-The impact of size and organisation of lying space. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 108, 89-103.
- 11 Andersen, I. L., Nævdal, E., Bakken, M., Bøe, K. E., 2004. Aggression and group size in domesticated pigs, *Sus scrofa*: "when the winner takes it all and the loser is standing small". *Anim. Behav.* 68 (4), 965-975.

- 12 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. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114, 132-148.
- 13 Apple, J. K., Dikeman, M. E., Minton, J. E., McMurphy, R. M., Fedde, M. R., Leith, D. E., Unruh, J. A., 1995. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. *J. Anim. Sci.* 73, 2295-2307.
- 14 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.
- 15 Arave, C. W., Mickelsen, C. H., Lamb, R. C., Svejda, A. J., Canfield, R. V., 1977. Effects of dominance rank changes, age, and body weight on plasma corticoids of mature dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 60 (2), 244-248.
- 16 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.
- 17 Aschwanden, J., Gygax, L., Wechsler, B., Keil, N. M., 2008. Social distances of goats at the feeding rack: Influence of the quality of social bonds, rank differences, grouping age and presence of horns. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114, 116-131.
- 18 Banks, E. M., Wood-Gush, D. G. M., Hughes, B. O., Mankovich, N. J., 1979. Social rank and priority of access to resources in domestic fowl. *Behav. Proc.* 4 (3), 197-209.
- 19 Barroso, F. G., Alados, C. L., Boza, J., 2000. Social hierarchy in the domestic goat: effect on food habits and production. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69, 35-53.
- 20 Bailey, D. W., Howery, L. D., Boss, D. L., 2000. Effects of social facilitation for locating feeding sites by cattle in an eight-arm radial maze. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 68, 93-105.
- 21 Beilharz, R. G., Zeeb, K., 1982. Social dominance in dairy cattle. *Appl. Anim. Ethol.* 8, 79-97.
- 22 Blanchard, D. C., Spencer, R. L., Weiss, S. M., Blanchard, R. J., McEwen, B., Sakai, R. R., 1995. Visible burrow system as a model of chronic social stress: behavioural and neuroendocrine correlates. *Psychoneuroendocrinology.* 20, 117-134.

- 23 Bøe, K. E., Berg, S., Andersen, I. L., 2006. Resting behaviour and displacements in ewes- effects of reduced lying space and pen shape. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 98, 249-259.
- 24 Bøe, K. E., Færevik, G., 2003. Grouping and social preferences in calves, heifers and cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 80, 175-190.
- 25 Bouissou, M. F., Andrieu, S., 1977. Etablissement des relations preferentielles chez les bovins domestiques. *Behaviour.* 64, 148-157.
- 26 Bouissou, M. F., Boisy, A., Le Neindre, P., Veissier, I. 2001. The social behaviour of Cattle. En: *Social Behaviour in Farm Animals.* (Eds.) Keeling, L. J., Gonyou, H. W. CABI Publishing, Wallingford, UK. 113-146.
- 27 Briski, K. P., Sylvester, P. W., 1987a. Effects of repetitive daily acute stress on pituitary LH and prolactin release during exposure to the same stressor or a second novel stress. *Psychoneuroendocrinology.* 12 (6), 429-437.
- 28 Briski, K. P., Sylvester, P. W., 1987b. Effects of sequential acute stress exposure on stress-induced pituitary luteinizing hormone and prolactin secretion. *Life Sci.* 41, 1249-1255.
- 29 Cameron, J. L., 1997. Stress and behaviorally induced reproductive dysfunction in primates. *Semin. Reprod. Med.* 15 (1), 37-45.
- 30 Carcangiu, V., Vacca, G. M., Parmeggiani, A., Mura, M. C., Pazzola, M., Dettori, M. L., Bini, P. P., 2008. The effect of shearing procedures on blood levels of growth hormone, cortisol and other stress haematochemical parameters in Sarda sheep. *Animal.* 4, 606-612.
- 31 Cassinello, J., 1995. Factors modifying female social ranks in *Ammotragus*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 45, 175-180.
- 32 Casteilla, L., Orgeur, P., Signoret, J. P., 1987. Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: practical use. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 19, 111-118.
- 33 Chichinadze, K., Chichinadze, N., 2008. Stress-induced increase of testosterone: Contributions of social status and sympathetic reactivity. *Physiol. Behav.* 94, 595-603.
- 34 Craig, V., 1981. Domestic animal behaviour: Causes and implication of animal care and management. (Ed.) Prentice-Hall, I New Jersey. 364.
- 35 Craig, V., 1986. Measuring behaviour: social dominance. *Anim. Sci.* 62, 1120-1129.

- 36 Craig, J. V., Ramos, N. C., 1986. Competitive feeding behaviour and social status in multiple-hen cages. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 16, 69-76.
- 37 Creel, S., 2001. Social dominance and stress hormones. *TREE.* 16, 491-497.
- 38 Christopher, S., 1972. Social validation of an objective measure of dominance in captive monkeys. *Behav. Res. Meth. & Instru.* 4 (1), 19-20.
- 39 Damián, J. P., Ungerfeld, R., 2011. The stress response of frequently electroejaculated rams to electroejaculation: hormonal, physiological, biochemical, haematological and behavioural parameters. *Reprod. Dom. Anim.* 46, 646-650.
- 40 De Goeij, D. C. E., Dijkstra, H., Tilders, F. J. H., 1992. Chronic psychosocial stress enhances vasopressin, but not corticotropin-releasing factor, in the external zone of the median eminence of male rats: relationship to subordinate status. *Endocrinology.* 131 (2), 847-853.
- 41 De Vries, H., 1998. Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. *Anim. Behav.* 55, 827-843.
- 42 DeVries, A. C., Glasper, E. R., Detillion, C. E., 2003. Social modulation of stress responses. *Physiol. Behav.* 79, 399-407.
- 43 DeVries, T. J., von Keyserlingk, M. A. G., Weary, D. M., 2004. Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 (5), 1432-1438.
- 44 Dobson, H., Smith, R. F. 2000. What is stress, and how does it affect reproduction?. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 743-752.
- 45 D'Occhio, M. J., Brooks, D. E., 1982. Threshold of plasma testosterone required for normal mating activity in male sheep. *Horm. Behav.* 16, 383-394.
- 46 Drews, C., 1993. The concept and definition of dominance in animal behavior. *Behaviour.* 125, 283-313.
- 47 Ekkel, E. D., van Doorn, C. E., Helsing, M. J., Tielen, M. J., 1995. The specific-stress-free housing system has positive effects on productivity, health, and welfare of pigs. *J. Anim. Sci.* 73, 1544-1551.

- 48 Ellard, M. E., Crowell-Davis, S. L., 1989. Evaluating equine dominance in draft mares. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 24, 55-75.
- 49 Ely, D. L., Henry, J. P., 1978. Neuroendocrine response patterns in dominant and subordinate mice. *Horm. Behav.* 10 (2), 156-169.
- 50 Erhard, H. W., Price, E. O., Dally, M. R., 1998. Competitive ability of rams selected for high and low levels of sexual performance. *Anim. Sci.* 66, 403-408.
- 51 Espmark, Y., 1964. Studies in dominance-subordination relationship in a group of semi-domestic reindeer (*Rangifer tarandus* L.). *Anim. Behav.* 12, 420-425.
- 52 Estevez, I., Andersen, I. L., Nævdal, E., 2007. Group size, density and social dynamics in farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 103, 185-204.
- 53 Evans, G., Maxwell, W. M. C., 1987. Manejo y valoración del semen. En: Salomon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. (Eds.) Butterworths & Co. London, UK. 95-105.
- 54 Ferin, M., 2006. Stress and the reproductive system. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3^a Ed. (Ed.) ELSEVIER Academic Press. London, UK. 2627-2696.
- 55 Fernández, M. A., Álvarez, L., Zarco, L., 2007. Regrouping in lactating goats increases aggression and decreases milk production. *Small Rumin. Res.* 70, 228-232.
- 56 Fernandez-Rodriguez, E., Stewart, P. M., Cooper, M. S., 2009. The pituitary-adrenal axis and body composition. *Pituitary.* 12, 105-115.
- 57 Festa-Bianchet, M., Jorgenson, J. T., Réale, D., 2000. Early development, adult mass and reproductive success in bighorn sheep. *Behav. Ecol.* 11, 633-639.
- 58 Fiol, C., Quintans, G., Ungerfeld, R., 2010. Response to biostimulation in peri-puberal beef heifers: influence of male-female proximity and heifer's initial body weight. *Theriogenology.* 74, 569-575.
- 59 Fiol, C., Ungerfeld, R., 2011. Male's sexual preference toward heavier heifers is only observed in competitive situations with lighter heifers. *Liv. Sci.* 139, 281-284.
- 60 Fisher, A., Matthews, L., 2001. The social behaviour of Sheep. En: Social Behaviour in Farm Animals. (Eds.) Keeling, L., Gonyou, H. W. CABI Publishing, UK. 211-245.

- 61 Fournier, F., Festa-Bianchet, M., 1995. Social dominance in adult female mountain goats. *Anim. Behav.* 49, 1449-1459.
- 62 Fowler, D. G., Jenkins, L. D., 1976. The effects of dominance and infertility of rams on reproductive performance. *Appl. Anim Ethol.* 2, 327-337.
- 63 Fraser, D., Rushen, J., 1987. Aggressive behavior. En: *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* (Ed.) Price, E.O. 3 (2), 307-322.
- 64 Fregonesi, J. A., Leaver, J. D., 2002. Influence of space allowance and milk yield level on behaviour, performance and health of dairy cows housed in strawyard and cubicle system. *Liv. Prod. Sci.* 78, 245-257.
- 65 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.
- 66 Galindo, F., Broom, D. M., 2000. The relationships between social behavior of dairy cows and the occurrence of lameness in three herds. *Res. Vet. Sci.* 69, 75-79.
- 67 Galindo, F., Orihuela, A., 2004. *Etología aplicada. 1ª Ed.,* (Ed.) Grupo Editorial Graphics. DF, México. 404.
- 68 Gonsalvez Neto, J., Teixeira, F. A., Nunes Nascimento, P. V., de Araujo Marquez, J., 2009. Comportamento social dos ruminantes. *Revista Eletrônica Nutritime.* 6, 1039-1055.
- 69 Gonzalez, R., Orgeur, P., Signoret, J. P., 1989. Seasonal variation in LH and testosterone responses of rams following the introduction of oestrous ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 21, 249-254.
- 70 Goymann, W., Wingfield, J., 2004. Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Anim. Behav.* 67, 591-602.
- 71 Gust, D. A., Gordon, T. P., Brodie, A. R., McClure, H. M., 1996. Effect of companions in modulating stress associated with new group formation in juvenile rhesus macaques. *Physiol. Behav.* 59, 941-945.
- 72 Hanlon, A., Rhinda, S. M., Reidb, H. W., Burrellsb, C., Lawrence, A. B., 1995. Effects of repeated changes in group composition on immune response, behavior, adrenal activity and liveweight gain in farmed red deer yearling. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 44, 57-64.

- 73 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. R., 2002. Trends of reproductive hormones in male rats during psychosocial stress: Role of glucocorticoid metabolism in behavioral dominance. *Biol. Reprod.* 67, 1750-1755.
- 74 Hasegawa, N., Nishiwaki, A., Sugawara, K., Ito, I., 1997. The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behaviour and adrenocortical response. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 51, 15-27.
- 75 Hogg, J. T., 1984. Mating in bighorn sheep: multiple creative male strategies. *Science.* 225, 526-529.
- 76 Holmes, R. J., 1986. Sexual behavior of sheep. In: Morrow, D. A. (Ed), *Current Therapy in Theriogenology, Diagnosis, Treatment, Prevention of reproduction diseases in small and large animals.* Saunders. 2, 870-873.
- 77 Hurnik, J. F., Lewis, N. J., Taylor, A., Pinheiro Machado, L. C., 1995. Social hierarchy. En: *Farm Animal Behaviour. Laboratory Manual.* 1^a Ed. (Ed.) University of Guelph. Guelph, Canada. 79-89.
- 78 Illius, A. W., Hayes, N. B., Lamming, G. E., 1976a. Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behavior in the ram. *J. Reprod. Fert.* 48, 25-32.
- 79 Illius, A. W., Haynes, N. B., Purvis, K. Lamming, G. E., 1976b. Plasma concentrations of testosterone in the developing ram in different social environments. *J. Reprod. Fert.* 48, 17-24.
- 80 Johnson, B. H., Welsh, T. H., Jr, Juniewicz, P. E., 1982. Suppression of luteinizing hormone and testosterone secretion in bulls following adrenocorticotrophin hormone treatment. *Biol. Reprod.* 26, 305-310.
- 81 Jørgensen, G. 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, 239-151.
- 82 Kaufmann, J. H., 1983. On the definitions and functions of dominance and territoriality. *Biol. Rev.* 58, 1-20.
- 83 Kendrick, K. M., Hinton, M. R., Atkins, K., 1998. Mothers determine sexual preferences. *Nature.* 395, 229-230.

- 84 Kondo, S.; Hurnik, J. F., 1990. Stabilization of social hierarchy in dairy cows; *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27, 287-297.
- 85 Kridli, R. T., Al-Yacoub, A. N., 2006. Sexual performance of Awassi ram lambs reared in different sex composition groups. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 96, 261-267.
- 86 Kridli, R. T., Said, S. I., 1999. Libido testing and the effect of exposing sexually naive Awassi rams to estrous on sexual performance. *Small Rumin. Res.* 32(2), 149-152.
- 87 Lamprecht, J., 1986. Social dominance and reproductive success in a goose flock (*Anser indicus*). *Behaviour.* 97, 50-65.
- 88 Landaeta-Hernández, A., Chenoweth, P. J., Randles, R., Littell, R., Rae, O., Chase, C. C., 2005. Identifying the social dominance order in a mixed breed herd: a practical methodology. *Revista Científica, FCV-LUZ.* 15 (2), 148-154.
- 89 Langbein, J., Puppe, B., 2004. Analysing dominance relationships by sociometric methods—a plea for a more standardised and precise approach in farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 293-315.
- 90 Lehner, P. N., 1996. *Handbook of Ethological Methods*, 2^o Ed. (Ed.) Cambridge University Press. Cambridge, UK. 672.
- 91 Lemaire, V., Taylor, G. T., Mormède, P., 1997. Adrenal axis activation by chronic social stress fails to inhibit gonadal function in male rats. *Psychoneuroendocrinology.* 22, 563-573.
- 92 Lindberg, A. C., 2001. Group life. En: *Social Behaviour in Farms Animals*. (Eds.) Keeling, L. J., Gonyou, H. W. CABI Publishing, Wallingford, UK. 37-58.
- 93 Lindsay, D. R., Dunsmore, D. G., Williams, J. D., Syme, G.J., 1976. Audience effects on the mating behaviour of rams. *Anim. Behav.* 24, 818-821.
- 94 Lincoln, G. A., Davidson, W., 1977. The relationship between sexual and aggressive behavior, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. *J. Reprod. Fert.* 49, 267-276.
- 95 Lincoln, G. A., Guinness, F., Short, R. V., 1972. The way in which testosterone controls the social and sexual behavior of the red deer stag (*Cervus elaphus*). *Horm. Behav.* 3, 375-396.

- 96 Lincoln, G. A., Lincoln, C. E., McNeilly, A. S., 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. *J. Reprod. Fert.* 88, 623-633.
- 97 Loretz, C.; Wechsler, B.; Hauser, R.; Rüscher, P., 2004. A comparison of space requirements of horned and hornless goats at the feed barrier and in the lying area; *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 275-283.
- 98 Luescher, U. A., Friendship, R. M., McKeown, D. B., 1990. Evaluation of methods to reduce fighting among regrouped gilts. *Can. J. Anim. Sci.* 70, 363-370.
- 99 Maina, D., Katz, L. S., 1999. Scent of a ewe: transmission of a social cue by conspecifics affects sexual performance in male sheep. *Biol. Reprod.* 60, 1373-1377.
- 100 Masteller, M. A., Bailey, J. A., 1988. Agonistic behaviour among mountain goats foraging in winter. *Can. J. Zool.* 66, 2585-2588.
- 101 Matteri, R. I., Watson, J. G., Moberg, G. P., 1984. Stress or acute adrenocorticotrophin treatment suppresses LHRH-induced LH release in the ram. *J. Reprod. Fertility.* 72, 385-393.
- 102 McGuire, M. T., Brammer, G. L., Raleigh, M. J., 1986. Resting cortisol levels and the emergence of dominant status among male vervet monkeys. *Horm. Behav.* 20, 106-117.
- 103 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.
- 104 Mendl, M., Deag, J. M., 1995. How useful are the concepts of alternative strategy and coping strategy in applied studies of social behaviour?. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 44, 119-137.
- 105 Mendl, M., Zanella, A. J., Broom, D. M., 1992. Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female domestic pigs. *Anim. Behav.* 44, 1107-1121.
- 106 Miranda de la Lama, G. C., Mattiello, S., 2010. The importance of social behaviour for goat welfare in livestock farming. *Small Rumin. Res.* 90, 1-10.
- 107 Monder, C., Randall, R. S., Miroff, Y., Blanchard, D. C., Blanchard, R. J., 1994. Reciprocal changes in plasma corticosterone and testosterone in stressed male rats maintained in a Visible Burrow System: Evidence for a mediating role of testicular 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase*. *Endocrinology*, 143, 1193-1198.

- 108 Mooring, M. S., Patton, M. L., Lance, V. A., Hall, B. M., Schaad, E. W., Fetter, G. A., Fortin, S. S., McPeak, K. M., 2006. Glucocorticoids of bison bulls in relation to social status. *Horm. Behav.* 49, 369-375.
- 109 Mounier, L., Veissier, I., Boissy, A., 2005. Behaviour, physiology, and performance of bulls mixed at the onset of finishing to form uniform body weight groups. *J. Anim. Sci.* 83, 1696-1704.
- 110 Nazifi, S., Saeb, M., Rowghani, E., Kaveh, K., 2003. The influences of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄) and cortisol concentrations. *Comp. Clin. Path.* 12, 135-139.
- 111 Nguyen, M. N. N., Tamashiro, K. L. K., Melhorn, S. J., Ma, L. Y., Gardner, S. R., Sakai, R. R., 2007. Androgenic influences on behavior, body weight, and body composition in a model of chronic social stress. *Endocrinology.* 148, 6145-6156.
- 112 Orgeur, P., Mimouni, P., Signoret, J. P., 1990. The influence of rearing conditions on the social relationships of young male goats (*Capra hircus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27, 105-113.
- 113 Ortiz de Montellano, A. M., 2004. Evaluación de las interacciones sociales en el macho cabrío y su efecto sobre la secreción hormonal y la calidad espermática. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México. 179.
- 114 Ostner, J., Heistermann, M., Schülke, O., 2008. Dominance, aggression and physiological stress in wild male Assamese macaques (*Macaca assamensis*). *Horm. Behav.* 54, 613-619.
- 115 Paltrinieri, S., Panelli, S., Comazzi, S., Sartorelli, P., 2002. Effect of 1-24ACTH administration on sheep blood granulocyte functions. *Vet. Res.* 33, 71-82.
- 116 Patón, D., Martín, L., Cereijo, M., Rota, A., Rojas, A., Tovar, J., 1995. Relationship between rank order and productive parameters in Verata goats during milking; *Anim. Sci.* 61, 545-551.
- 117 Pearce, G. P., Paterson, A. M., Hughes, P. E., 1988. Effect of short-term elevations in plasma cortisol concentration on LH secretion in prepubertal gilts. *J. Reprod. Fert.* 83, 413-418.
- 118 Pelletier, F., Bauman, J., Festa-Bianchet, M. 2003. Fecal testosterone in bighorn sheep (*Ovis canadensis*): behavioural and endocrine correlates. *Can. J. Zool.*, 81, 1678–1684.

- 119 Pelletier, F., Festa-Bianchet, M., 2006. Sexual selection and social rank in bighorn rams. *Anim. Behav.* 71, 649-655.
- 120 Penning, P. D., Parsons, A. J., Newman J. A., Orr, R. J., Harvey, A., 1993. The effects of group size on grazing time in sheep. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 37, 101-109.
- 121 Perkins, A., Fitzgerald, J. A., 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72, 51-55.
- 122 Preston, B. T., Stevenson, I. R., Pemberton, J. M., Wilson, K., 2001. Dominant rams lose out by sperm depletion. *Nature.* 409, 681-682.
- 123 Preston, B. T., Stevenson, I. R., Pemberton, J. M., Coltman, D. W., Wilson, K., 2003. Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270, 633-640.
- 124 Price, E. O., 2002. Social environment. En: *Animal domestication and behavior.* (Ed.) CAB Publishing, Wallingford, UK. 130-141.
- 125 Price, E. O., 1987. Male sexual behaviour. *The Veterinary Clinics of North Americ. Food Animal Practice.* (Ed.) Price, E. O. 3 (2), 405-422.
- 126 Price, E. O., Borgwardt, R., Blackshaw, J. K., Blackshaw, A., Dally, M. R., Erhard, H., 1994. Effect of early experience on the sexual performance of yearling rams. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 42, 41-48.
- 127 Price, O. E., Borgwardt, R., Dally, M. R., 1996. Heterosexual experience differentially affects the expression of sexual behavior in 6- and 8-month-old ram lambs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 46, 193-199.
- 128 Price, O. E., Estep, D. Q., Wallach, S. J. R., Dally, M. R., 1991. Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *J. Anim. Sci.* 69, 1047-1052.
- 129 Puppe, B., Langbein, J., Bauer, J., Hoy, S., 2008. A comparative view on social hierarchy formation at different stages of pig production using sociometric measures. *Livest. Prod. Sci.* 113, 155-162.

- 130 Raussi, S., Boissy, A., Andanson, S., Kaihilahti, J., Pradel, P., Veissier, I., 2006. Repeated regrouping of pair-housed heifers around puberty affects their behavioural and HPA axis reactivities. *Anim. Res.* 55, 131-144.
- 131 Rebuffe-Scrive, M., Walsh, U. A., McEwen, B., Rodin, J., 1992. Effect of chronic stress and exogenous glucocorticoids on regional fat distribution and metabolism. *Physiol. Behav.* 52, 583-590.
- 132 Rivier, C., Rivest, S., 1991. Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: Peripheral and central mechanisms. *Biol. Reprod.* 45, 523-532.
- 133 Rizvi, S., Nicol, C. J., Green, L. E., 1998. Risk factors for vulva biting in breeding sows in south-west England. *Vet. Rec.* 143, 654-658.
- 134 Rodenburg, T. B., Koene, P., 2007. The impact of group size on damaging behaviours, aggression, fear and stress in farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 103, 205-214.
- 135 Roselli, C. E., Stormshak, F., Stellflug, J. N., Resko, J. A., 2002. Relationship of serum testosterone concentration to mate preferences in rams. *Biol. Reprod.* 67, 263-268.
- 136 Ruiz de la Torre, J. L., Manteca, X., 1999. Effects of testosterone on aggressive behaviour after social mixing in male lambs. *Physiol. Behav.* 68, 109-113.
- 137 Sapolsky, R. M., 1982. The endocrine stress-response and social status in the wild baboon. *Horm. Behav.* 16, 279-292.
- 138 Sapolsky, R. M., Romero, L. M., Munck, A. U., 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endoc. Rev.* 21, 55-89.
- 139 Schanbacher, B. D., Lunstra, D. D., 1976. Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finnish Landrace and Suffolk rams. *J. Anim. Sci.* 43, 644-650.
- 140 Setchell, J. M., Smith T., Wickings E. J., Knapp, L. A., 2010. Stress, social behaviour, and secondary sexual traits in a male primate. *Horm. Behav.* 58, 720-728.
- 141 Sevi, A., Taibi, L., Albenizio, M., Muscio, A., Dell'Aquila, S., Napolitano, F., 2001. Behavioral, adrenal, immune, and productive responses of lactating ewes to regrouping and relocation. *J. Anim. Sci.* 79, 1457-1465.

- 142 Stellflug, J. N., Cockett, N. E., Lewis, G. S., 2006. Relationship between sexual behavior classifications of rams and lambs sired in a competitive breeding environment. *J. Anim. Sci.* 84, 463-468.
- 143 Stellflug, J. N., Lewis, G. S., 2007. Effect of early and late exposure to estrual ewes on ram sexual performance classifications. *Anim. Reprod. Sci.* 97, 295-302.
- 144 Stricklin, W. R., Mench, J. A., 1987. Social organization. En: *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* (Ed.) Price, E.O. 3 (2), 307-322.
- 145 Syme, G. J., 1974. Competitive orders as measures of social dominance. *Anim. Behav.* 22, 931-940.
- 146 Syme, G. J., Syme, L. A., 1974. The relationship between the peck order and performance in a competitive group feeding situation by two groups of cockerel. *Behav. Biol.* 12, 547-550.
- 147 Syme, G. J., Syme, L. A., Kevey, W., 1975. The peck order and performance in three competitive situations by a small flock of pullets. *Behav. Biol.* 13, 257-262.
- 148 Synnott, A. L., Fulkerson, W. J., 1984. Influence of social interaction between rams on their serving capacity. *Appl. Anim. Ethol.* 11, 283-298.
- 149 Takeda, K., Sato, S., Sugawara, K., 2003. Familiarity and group size affect emotional stress in Japanese black heifers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 82 (1), 1-11.
- 150 Tamashiro, K. L. K., Hageman, M. A., Nguyen, M. M. N., Melhorn, S. J., Ma, L. Y., Woods, S. C., Sakai, R. R., 2007b. Dynamic body weight and body composition changes in response to subordination stress. *Physiol. Behav.* 91, 440-448.
- 151 Tamashiro, K. L. K., Nguyen, M. M. N., Fujikawa, T., Xu, T., Ma, L. Y., Woods, S. C., Sakai, R. R., 2004. Metabolic and endocrine consequences of social stress in a visible burrow system. *Physiol. Behav.* 80, 683-693.
- 152 Tamashiro, K. L. K., Nguyen, M. M. N., Ostrander, M. M., Gardner, S. R., Ma, L. Y., Woods, S. C., Sakai, R. R., 2007a. Social stress and recovery: implications for body weight and body composition. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, 1864-1874.
- 153 Tamashiro, K. L. K., Nguyen, M. M. N., Sakai, R. R., 2005. Social stress: From rodents to primates. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 26, 27-40.

- 154 Thibier, M., Rolland, O., 1976. The effect of dexametasone (DXM) on circulating testosterone (T) and luteinizing hormone (LH) in young post pubertal bulls. *Theriogenology*. 5, 53-60.
- 155 Thwaites, C. J., 1994. The comparative effects of undernutrition, exercise and frequency of ejaculation on the size and tone of the testes and on semen quality in the ram. *Anim. Reprod. Sci.* 37, 299-309.
- 156 Tilbrook, A. J., 1984. Contribution of ram mating behaviour to the fertility of sheep flocks. PhD. Thesis, University of Western Australia, Australia. 264.
- 157 Tilbrook, A. J., Cameron, A. W. N., 1990. The contribution of the sexual behaviour of rams to successful mating of ewes under field conditions. En: *Reproductive physiology of Merino sheep. Concept and consequences*. (Eds.) Oldham. C. M., Martin, G. B., Purvis, I. W. School of Agriculture (Animal Science). The University of Western Australia, Australia. 143-160.
- 158 Tilbrook, A. J., Cameron, A. W. N., Lindsay, D. R., 1987. The influence of ram mating preferences and social interaction between rams on the proportion of ewes mated at field joining. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 18, 173-184.
- 159 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. *J. Reprod. Fert.* 5, 105-113.
- 160 Tomlinson, K. A., Price, E. O., 1979. The establishment and reversibility of species affinities in domestic sheep and goats. *Anim. Behav.* 28, 325-330.
- 161 Ungerfeld, R., 2011. Sexual behavior of medium-ranked rams toward non-estruual ewes is stimulated by the presence of low-ranked rams. *J. Vet. Behav.* Aceptado para publicación.
- 162 Ungerfeld, R., Correa, O., 2007. Social dominance of female dairy goats influences the dynamics of gastrointestinal parasite eggs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 105, 249-253.
- 163 Ungerfeld, R., González-Pensado, S. P., 2008a. Social rank affects reproductive development in male lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 109, 161-171.
- 164 Ungerfeld, R., González-Pensado, S. P., 2008b. Social dominance and courtship and mating behavior in rams in non-competitive and competitive pen test. *Reprod. Dom. Anim.* 44, 44-47.

- 165 Ungerfeld, R., González-Pensado, S. P., Dago, A. L., Vilariño, M., Menchaca, A., 2007. Social dominance of female dairy goats and response to oestrous synchronisation and superovulatory treatments. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 105, 115-121.
- 166 Val-Laillet, D., de Passillé, A. M., Rushen, J., von Keyserlingk, M. A. G., 2008. The concept of social dominance and the social distribution of feeding-related displacements between cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111, 158-172.
- 167 Veissier, I., Boissy, A., dePassille, 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.
- 168 Waites, G. M. H., Setchell, B. P., 1990. Physiology of the mammalian testis. En: *Physiology of Reproduction*. 4^a Ed., (Eds.) Lamming G. E. UK. 1-150.
- 169 Wierenga, H. K., 1990. Social dominance in dairy cattle and the influences of housing and management. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27, 201-229.
- 170 Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M., Ball, G. F., 1990. The "Challenge Hypothesis": Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Nat.* 136, 829-846.
- 171 Wingfield, J. C., Sapolsky, R. M., 2003. Reproduction and resistance to stress: when and how. *J. Neuroendocrinology*. 15, 711-724.
- 172 Yamaguchi, M., Katoh, S., Morimoto, C., Sakayama, K., Shiosaka, T., Masuno, H., Okuda, H., 2002. The hormonal responses of lipoprotein lipase activity and lipolysis in adipose tissue differ depending on the stage of the estrous cycle in female rats. *Int. J. Obes.* 26, 610-617.
- 173 Zenchak, J. J., Anderson, G. C., 1980. Sexual performance levels of rams (*Ovis aries*) as affected by social experiences during rearing. *J. Anim. Sci.* 50, 167-174.
- 174 Zenchak, J. J., Anderson, G. C., Schein, M. W., 1981. Sexual partner preference of adult rams (*Ovis aries*) as affected by social experiences during rearing. *Appl. Anim. Ethol.* 7, 157-167.

11. ANEXO

Publicación I



Contents lists available at ScienceDirect

Animal Reproduction Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anireprosci

Social rank during pre-pubertal development and reproductive performance of adult rams

R. Ungerfeld*, L. Lacuesta

Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 November 2009
 Received in revised form 28 April 2010
 Accepted 12 May 2010
 Available online 20 May 2010

Keywords:

Rams
 Social ranking
 Pre-pubertal development
 Dominance
 Sexual behavior
 Semen characteristics

ABSTRACT

Reproductive performance of rams when they were 1.5 and 2.5 years old during two breeding seasons was investigated. The objective was to compare the reproductive performance of the rams on the basis of their social ranks, which had been scored for each subject during the lamb development stage. The subjects were aged matched Corriedale × Milchschaaf rams ($n = 12$: all singles born during the same week from multiparous ewes) were used. Data were collected from the five rams with greater (GR) and lesser (LR) social rank scores when lambs. These data included body weight, scrotal circumference, sexual behavior toward estrual ewes (e.g. incidence of ano-genital sniffing, lateral approaches, Flehmen, mount attempts, actual mounts, and mounts with ejaculations, and ejaculation/total mount ratio) during a 30-min period, and semen variables (semen volume, mass motility, individual sperm motility and total number of spermatozoa in the ejaculate). During the first breeding season, GR rams were heavier (62.9 ± 2.7 kg) than LR rams (69.4 ± 3.0 kg; $P < 0.0001$). There were no differences in scrotal circumference or testosterone concentration measures. Semen volume was greater in GR rams (0.5 ± 0.1 mL compared to 0.7 ± 0.1 mL for GR and LR rams; $P < 0.004$), but it tended to have a greater percentage of abnormal spermatozoa. Although some courtship behaviors were more frequent in LR rams (lateral approaches and Flehmen) and ejaculation/total mount ratio of LR rams also tended to be greater, mounting activity (mount attempts and mounts) was more frequent in GR rams. During the second year, GR rams still tended to be heavier (83.3 ± 2.0 kg compared to 85.9 ± 2.4 kg; $P = 0.09$) but had smaller scrotal circumference than LR rams (37.5 ± 0.2 cm compared to 36.5 ± 0.6 cm; $P < 0.045$). Semen characteristics were not different for the rams, but mass motility tended to be greater for LR rams. Generally, LR rams displayed more lateral approaches, showed Flehmen more often, mounted with ejaculation more often, and tended to have a greater mount with ejaculation/total mounts ratio. Conclusions were courtship of rams may differ in line with the social status they had as lambs although there are not clear effects on other sexual behaviors or semen characteristics.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The social environment in which male lambs are reared appears to influence some aspects of reproductive behavior. For example, continuous exposure to estrual ewes

during the first 6 months of life induces an increase in testosterone concentrations and in testicular size (Illius et al., 1976a). Yearling rams exhibited enhanced sexual performance and greater sexual interest in females where they had previous direct contact with females at 7–9 months of age (Price et al., 1991, 1994).

Rams that were reared in male groups, without contact with females, have less interest in females (Zenchak and Anderson, 1980). According to Welch (1972) (cited by

* Corresponding author. Tel.: +598 2 628 6955; fax: +598 2 6280130.
 E-mail address: rungerfeld@gmail.com (R. Ungerfeld).

Zenchak and Anderson, 1980), only 30% of the rams that were reared in isolation from females subsequently mated, compared to 82% of the rams reared in contact with males and females. Similarly, De Montigny and Lequenne (1975) (cited by Orgeur et al., 1990) reported difficulty associated with collecting semen from rams that had not come in contact with females prior to 5 months of age. Stellflug and Lewis (2007) demonstrated early exposure of ram lambs to estrual ewes improves sexual performance in serving capacity tests of adult rams.

However, there is no information in relation to the influences of other social stimuli during rearing on adult life. In adult rams, lesser-ranked males have limited access to receptive females (Preston et al., 2003), as sexual activity is frequently disrupted by other rams (Hogg, 1984). In pen tests, presence of dominant rams affects the sexual behavior of subordinate rams (Lindsay et al., 1976; Synnott and Fulkerson, 1984; Tilbrook et al., 1987; Ungerfeld and González-Pensado, 2008a). Similarly, social hierarchies affect reproductive development of male lambs (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b). Lambs with greater social ranking had greater body weight and scrotal circumference at earlier ages than lesser-ranked lambs, and semen production and sexual behavior also occurred earlier in lambs with greater social ranking than in lesser-ranked lambs (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b). However, it remains to be determined if social rank during rearing affects not only development rate, but also, as happens with female presence, affects the adult male reproductive performance as well. If with a lesser social rank of lambs affects negatively the adult rams' reproductive activity, practical management to avoid these effects should be developed. For example, if rams with a greater social rank have priority access to food, it may be possible to feed them separately from lambs with a greater social rank.

Therefore, objectives of the present study were to compare the reproductive performance (semen production and sexual behavior) of rams during the breeding season in relation to the social rank they had during development as lambs. Therefore, the experiment was performed with the same rams used during their first 9 months in Ungerfeld and González-Pensado (2008b). Tests were performed when rams were 1.5 and 2.5 years old.

2. Materials and methods

2.1. Animals and management

For the experiment, the same rams previously used to determine the influence of social rank on male lamb development (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b) were used. However, two rams were eliminated due to health problems, one medium-ranked (not considered for data analysis in the previous work) the first year, and one originally lesser-ranked during the second year. The 12 Corriedale × Milchschafer rams, which were all singles born the same week from multiparous ewes, were moved to the facilities of the Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay (35°S) when they were 9 months old. Rams were maintained in a 10 m × 10 m pen during all the experiment, and received alfalfa hay, 500 g

of concentrate per day and water was available *ad libitum*. The study was performed during the two following breeding seasons, when rams were 1.5 and 2.5 years old. Data were collected from the five rams that had greater (GR) and lesser (LR) social rank during the pre-pubertal stage.

2.2. First year trial (yearling rams)

The data were collected during the February–June period (mid-summer to the end of autumn). Social rank success index (Section 2.4) was determined in March. Rams were weighed and scrotal circumference was recorded every week by the same observer. Serum samples were obtained weekly by jugular venipuncture. Samples were allowed to clot for 1 h at room temperature before being centrifuged for 10–20 min, and stored at –20° C until assayed for testosterone. Testosterone was measured with a Count-A-Count (TKPG, Diagnostic Products Corporation) solid-phase kit. The detection limit of the assay was 0.5 nmol/L. The intra-assay coefficients of variation were all below 10%. Semen was collected every 2 weeks, and sexual behavior was also recorded every 2 weeks during the same period.

2.3. Second year trial (adult rams)

The data were collected from February 18 to April 30 (mid-summer to mid-autumn). Success index was determined during February. Rams were weighed and scrotal circumference was recorded weekly in the first 2 weeks of each month. Semen was collected, and sexual behavior toward estrual ewes, e.g. incidence of ano-genital sniffing, lateral approaches, Flehmen, mount attempts, actual mounts, and mounts with ejaculations, and ejaculation/total mount ratio during for a 30-min period was also recorded.

2.4. Social rank

As in Ungerfeld and González-Pensado (2008b), hierarchy was determined using the food competition test (Synnott and Fulkerson, 1984). Rams were used to this test, as it has been applied every 3 months during all their life as part of other experiments. After fasting the rams for 12 h, each dyad of rams was allowed to compete for feed in a bucket only large enough to accommodate one ram eating from the vessel at any one point in time. Paired encounters were performed each day with each ram tested once. Only one test was performed with each ram each day. When a ram was able to eat from the bucket for more than 1 min, it was considered to be the dominant individual of the pair (Lindsay et al., 1976). After testing every possible pair of rams, a success index based on the number of tests in which each ram was considered as dominant was calculated.

2.5. Semen collection and evaluation

To avoid differences provoked by rams' libido, semen was collected using an electroejaculator. The penis of the rams were grasped and held at the end of a calibrated centrifuge tube. Electrical stimulation was applied for intervals

Table 1

Body weight and reproductive performance of 1.5 years old rams according to the hierarchical position they had as lambs: LR ($n=5$), were lesser-ranked when lambs; GR ($n=5$), were greater-ranked when lambs.

	LR	GR	P
Body weight (kg)	62.9 ± 2.7	69.4 ± 3.0	<0.0001
Scrotal circumference (cm)	31.4 ± 0.9	31.8 ± 1.0	ns
Testosterone concentrations	17.8 ± 7.9	19.4 ± 6.0	ns
Semen characteristics			
Volume (mL)	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.004
Mass motility	2.9 ± 0.2	3.1 ± 0.2	ns
Individual motility (%)	71.9 ± 11.3	79.9 ± 3.9	ns
Total spz ($\times 10^6$)	2482 ± 503	2968 ± 331	ns
Abnormal spz (%)	9.6 ± 2.3	14.0 ± 1.8	0.07
Sexual behavior			
Courtship onset (s)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	ns
Ano-genital sniffing	23.1 ± 1.3	21.9 ± 1.5	ns
Lateral approaches	101.4 ± 7.3	75.9 ± 5.8	0.001
Flehmen	3.8 ± 0.4	2.6 ± 0.4	0.01
Mount attempts	4.6 ± 0.8	6.8 ± 0.9	0.04
Mounds	6.2 ± 0.9	10.1 ± 1.2	0.005
Mounds with ejaculation	2.6 ± 0.3	2.6 ± 0.3	ns
Mounds with ejaculation/total mounds	0.30 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.08
Time to first mount with ejaculation (s)	166.8 ± 45.6	172.2 ± 58.6	ns

of 3–5 s and alternated with rest periods of similar duration until semen was obtained. Semen volume, mass motility (scales 0–5) and individual sperm motility were recorded according to Evans and Maxwell (1987). Sperm concentration was recorded and total number of spermatozoa in the ejaculate was calculated.

2.6. Sexual behavior

The sexual behavior of the rams was tested in a 5 m × 5 m pen with an estrual ewe. One ovariectomized ewe was induced to estrus with an hormonal treatment (5–6 days of intravaginal sponges impregnated with medroxi-progesterone acetate, and 12 h injections of estradiol benzoate) for each weekly test. The incidence of ano-genital sniffing, lateral approach, Flehmen response, mount attempts, mounds, and mounds with ejaculations were recorded for a 30-min period. The total mount number (mounds + mounds with ejaculations) and the ejaculation/total mount ratio was calculated.

2.7. Statistical analysis

Success indexes from both LR and GR rams were compared with an ANOVA. Data were compared with a hierarchical ANOVA, considering each time point as the subgroups that generated the data for each animal.

3. Results

3.1. First year trial (yearling rams)

Success index did not differ between LR (0.45 ± 0.16) and GR (0.55 ± 0.10). GR rams were heavier than LR rams. There were no differences in scrotal circumference or testosterone concentrations. Semen volume was greater in GR rams, but this semen tended to have a greater percentage of abnormal spermatozoa (Table 1).

Although some courtship behaviors were more frequent in LR than GR (lateral approaches and Flehmen), mounting activity (mount attempts and mounds) was more frequent in GR ($P=0.04$ and 0.005 respectively). The ejaculation/total mount ratio of LR tended to be greater (Table 1).

3.2. Second year trial (adult rams)

Success index did not differ between LR (0.42 ± 0.07) and GR (0.55 ± 0.14) rams. GR rams tended to be heavier ($P=0.09$), and had smaller scrotal circumference ($P=0.045$) than LR rams. Semen characteristics were not different for GR and LR rams, but mass motility tended ($P=0.08$) to be greater in semen from LR than GR rams. There were differences in sexual behavior: LR rams displayed more lateral approaches ($P<0.001$), showed Flehmen more times ($P=0.03$), mounted with ejaculation more times ($P=0.007$), and tended to have a greater mount to ejaculation/total mounds ratio ($P=0.08$). Number of mount attempts was, however, greater in LR ($P=0.02$) (Table 2).

4. Discussion

Overall, the evidence suggests that the ram reproductive performance may be related to the social rank of the individual ram during the pre-pubertal stage. This expands previous concepts relating social environment during male lamb rearing and ram sexual behavior. Contact with females during rearing positively influences rams serving capacity as adults (Price et al., 1991, 1994; Stellflug and Lewis, 2007; Zenchak and Anderson, 1980). Presence of dominant individuals, however, delays reproductive development (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b), and also affects sexual behavior as adults. Thus, the rams with a lesser social rank as lambs courted more but mated less than those that were greater social rank. Although 1 year later, rams that had been lesser-ranked had increased serving capacity, they still had a greater number of courtship events.

Table 2

Body weight and reproductive performance of 2.5 years old rams according to the hierarchical position they had as lambs: LR ($n=4$), were lesser-ranked when lambs; GR ($n=5$), were ranked as having greater social status as lambs.

	LR	GR	P
Body weight (kg)	83.3 ± 2.0	85.9 ± 2.4	0.09
Scrotal circumference (cm)	37.5 ± 0.2	36.5 ± 0.6	0.045
Semen characteristics			
Volume (mL)	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	ns
Mass motility	3.3 ± 0.3	2.8 ± 0.2	0.08
Individual motility (%)	68.6 ± 4.7	64.8 ± 3.6	ns
Total spz ($\times 10^6$)	1700 ± 246	2371 ± 441	ns
Abnormal spz (%)	21.1 ± 3.5	18.9 ± 2.0	ns
Sexual behavior			
Courtship onset (s)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	ns
Ano-genital sniffing	10.8 ± 1.4	9.0 ± 1.4	ns
Lateral approaches	112.5 ± 8.7	74.0 ± 6.5	<0.001
Flehmen	3.2 ± 0.7	1.7 ± 0.4	0.03
Mount attempts	6.9 ± 1.7	13.0 ± 2.2	0.02
Mounts	4.8 ± 1.1	4.3 ± 0.8	ns
Mounts with ejaculation	2.8 ± 0.3	1.7 ± 0.3	0.007
Mounts with ejaculation/total mounts	0.5 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.08
Time to first mount with ejaculation (s)	205 ± 75	328 ± 98	ns

The social rank of male lambs during pre-pubertal development affected reproductive performance as adult rams. However, although reproductive performance was clearly greater in lambs with a greater social ranking than in lesser-ranked lambs (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b), results as adults differ. Frequency of courtship behavior events was greater in LR rams during both breeding seasons. This is similar to what we observed in adult rams: when tested alone with estrual ewes, rams with a greater social ranking displayed less courtship events (Ungerfeld and González-Pensado, 2008a). Present results indicate reproductive strategies that determine differential access to females is affected by social rank in earlier life stages. Differences in courtship variables were maintained as adults although social rank did not differ between GR and LR rams as adults. Mount activity and mount effectiveness, however, changed over time, suggesting it may be a more flexible behavior, and rams may adapt with changes in age.

There were no differences in testosterone serum concentrations with social status. This agrees with observations of Illius et al. (1976b), who reported that testosterone pattern in male rams until 21 months of age was not modified by the social environment (isolated, in male groups, or in sex-mixed groups) and Kridli and Al-Yacoub (2006) where sexual environment in which male lambs were reared (with or without ewes) did not influence testosterone concentrations. Perkins and Fitzgerald (1994) in adult rams, and Ungerfeld and González-Pensado (2008b) in lambs, reported that testosterone concentrations were similar between males that displayed greater or lesser sexual behavior events. Pelletier et al. (2003) reported a relationship between social rank and testosterone production, but this difference was not detectable when age was taken into account. As in the present experiment, all rams were born the same week, possible effects of age on social rank, and therefore in testosterone secretion, could not be detected. Therefore, the differences in sexual behavior observed are not related to a greater production of testos-

terone, but may be related to differences in sensitivity to testosterone determining that with similar concentrations some rams display greater sexual behavior and have greater serving capacities.

There were no important differences in semen production as related to social rank. Aguirre et al. (2007) reported greater semen volume and sperm concentration in rams with greater social ranking than in lesser-ranked rams, but rams were evaluated in small groups, in which hierarchical effects may be greater. In the present experiment, only long-term effects of hierarchy in a lamb's life were detected. In wild rams it has been proposed that although copulation rate is not affected by the length of the rut period, there is a decline in the proportion of lambs sired by larger males as the rut progresses (Preston et al., 2001). Moreover, ejaculates from males with a greater copulation rate had fewer spermatozoa per ejaculate, with a greater proportion of abnormal spermatozoa (Preston et al., 2001). This lesser amount of sperm may be caused by greater ejaculation rates, as shown in domestic rams (Thwaites, 1994). However, in the present experiment rams only mated ewes during the sexual tests, so sexual activity did not have a direct influence in semen characteristics. Although hierarchical positions (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b) or the presence of ewes (Casteilla et al., 1987) advances semen production in pubertal lambs, lamb social rank does not have consequences on semen quality of adult rams.

Although lambs with a greater social rank had greater body weights than lesser-ranked lambs (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b), differences were maintained the first year, but only tended to be so during the second year. This agrees with previous findings, as body weight differed in lambs (Ungerfeld and González-Pensado, 2008b), but not in adult rams (Ungerfeld and González-Pensado, 2008a). One possible explanation for the lack of difference is that although body mass is closely related to social rank in adult wild rams (Pelletier and Festa-Bianchet, 2006) domestication implies lesser pressures for animals, where animals require less time and energy to access food

and appropriate diet, are provided with protection from predators and appropriate health and welfare management (Price, 2002). It should be considered that yearling rams not fully matured, as body weights were 75% to 80% of mature body weight. Although growth rate may have been less in LR rams, probably growth time was longer in LR rams allowing them to compensate in growth later in life. Similarly, Festa-Bianchet et al. (2000) observed that male lamb body mass was not correlated with adult body mass in bighorn rams. Therefore, the findings from the current study suggest that social rank and body weight in sheep are possibly more closely associated during the pre-pubertal development stage than during the later stages of adulthood.

Overall, courtship patterns of mature rams may differ with social status as lambs, there are not clear effects on other sexual behaviors or semen characteristics as mature rams.

Acknowledgements

Authors acknowledge Silvana González-Pensado, Laura Morena, María Laura Núñez and Karina Pereyra for help with animal management; Milton Pintos took care of the animals. We especially acknowledge Sarah Chaplin and the ISAE Help with English scheme for language revision. Financial support: PDT 54-33 (MEC), CSIC (UdelaR), Uruguay.

References

- Aguirre, V., Orihuela, A., Vázquez, R., 2007. Seasonal variations in sexual behavior, testosterone, testicular size and semen characteristics, as affected by social dominance, of tropical hair rams (*Ovis aries*). *Anim. Sci. J.* 78, 417–423.
- Casteilla, L., Orgeur, P., Signoret, J.P., 1987. Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: practical use. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 19, 111–118.
- Evans, G., Maxwell, W.M.C., 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, Sydney.
- Festa-Bianchet, M., Jorgenson, J.T., Réale, D., 2000. Early development, adult mass, and reproductive success in bighorn sheep. *Behav. Ecol.* 11, 633–639.
- Hogg, J.T., 1984. Mating in bighorn sheep: multiple creative male strategies. *Science* 225, 526–529.
- Illius, A.W., Hayes, N.B., Lamming, G.E., 1976a. Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behavior in the ram. *J. Reprod. Fert.* 48, 25–32.
- Illius, A.W., Hayes, N.B., Purvis, K., Lamming, G.E., 1976b. Plasma concentrations of testosterone in the developing ram in different social environments. *J. Reprod. Fert.* 48, 17–24.
- Kridli, R.T., Al-Yacoub, A.N., 2006. Sexual performance of Awassi ram lambs reared in different sex composition groups. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 96, 261–267.
- Lindsay, D.R., Dunsmore, D.G., Williams, J.D., Syme, G.J., 1976. Audience effects on the mating behaviour of rams. *Anim. Behav.* 24, 818–821.
- Orgeur, P., Mimouni, P., Signoret, J.P., 1990. The influence of rearing conditions on the social relationship of young male goats (*Capra hircus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 27, 105–113.
- Pelletier, F., Bauman, J., Festa-Bianchet, M., 2003. Fecal testosterone in bighorn sheep (*Ovis canadensis*): behavioural and endocrine correlates. *Can. J. Zool.* 81, 1678–1684.
- Pelletier, F., Festa-Bianchet, M., 2006. Sexual selection and social rank in bighorn rams. *Anim. Behav.* 71, 649–655.
- Perkins, A., Fitzgerald, J.A., 1994. The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *J. Anim. Sci.* 72, 51–55.
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J.M., Wilson, K., 2001. Dominant rams lose out by sperm depletion. *Nature* 409, 681–682.
- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J.M., Coltman, D.W., Wilson, K., 2003. Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270, 633–640.
- Price, E.O., 2002. *Animal Domestication and Behavior*. CAB Publishing, Wallingford, UK.
- Price, E.O., Borgwardt, R., Blackshaw, J.K., Blackshaw, A., Dally, M.R., Erhard, H., 1994. Effect of early experience on the sexual performance of yearling rams. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 42, 41–48.
- Price, O.E., Estep, D.Q., Wallach, S.J.R., Dally, M.R., 1991. Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *J. Anim. Sci.* 69, 1047–1052.
- Stellflug, J.N., Lewis, G.S., 2007. Effect of early and late exposure to estrual ewes on ram sexual performance classifications. *Anim. Reprod. Sci.* 97, 295–302.
- Synnott, A.L., Fulkerson, W.J., 1984. Influence of social interaction between rams on their serving capacity. *Appl. Anim. Ethol.* 11, 283–289.
- Thwaites, C.J., 1994. The comparative effects of undernutrition, exercise and frequency of ejaculation on the size and tone of the testes and on semen quality in the ram. *Anim. Reprod. Sci.* 37, 299–309.
- Tilbrook, A.J., Cameron, A.W.N., Lindsay, D.R., 1987. The influence of ram mating preferences and social interaction between rams on the proportion of ewes mated at field joining. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 18, 173–184.
- Ungerfeld, R., González-Pensado, S.P., 2008a. Social dominance and courtship and mating behavior in rams in non-competitive and competitive pen tests. *Reprod. Domest. Anim.* 44, 44–47.
- Ungerfeld, R., González-Pensado, S.P., 2008b. Social rank affects reproductive development in male lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 109, 161–171.
- Zenchak, J.J., Anderson, G.C., 1980. Sexual performance levels of rams (*Ovis aries*) as affected by social experiences during rearing. *J. Anim. Sci.* 50, 167–174.

Changes in sexual behaviour in Saint Croix rams after joining with an unknown ram

Lorena Lacuesta^A, Fernando Sánchez-Dávila^B, Rodolfo Ungerfeld^A.

^A Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacas 1550, Montevideo 11600, Uruguay.

^B Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, Marín, México.

Email: lacuesta16@gmail.com

The presence of dominant rams affect the sexual behaviour of subordinate rams. However, it is not known if sexual behaviour is affected during the establishment of dominance-subordination relationships. Therefore, the objective was to determine if rams' sexual behaviour toward oestrous ewes is affected immediately after joining with an unknown ram. The experiment was performed during the breeding season in Nuevo León, México (40°N) with 10 Saint Croix adult rams (2-2.5 years; 67.9±1.6 kg; mean ± SEM) that have been maintained in individual pens for 1 month. In Day 0, two rams of similar body weight were joined in a new pen, in which dominance relationships were determined by food competition daily during 10 days. Sexual behaviour of subordinate (SR) and dominant (DR) rams towards oestrous ewes was determined before (BJ: Days -8, -5 and -2) and after joining (AJ: Days 3, 8, 10, 14 and 17). Rams were individually exposed to an oestrous ewe for 20 min in another pen, and the frequency of courtship behavioural events, mounts and mates was recorded. The recorded parameters were compared with an ANOVA for repeated measures. Sexual behaviour of SR and DR was similar ($P>0.05$). However, most behaviours increased after joining: mount attempts (0.8 ± 0.5 vs 5.6 ± 3.1 , $P<0.05$), mounts without ejaculation (2.1 ± 1.0 vs 6.5 ± 3.1 , $P<0.005$), total mounts (3.3 ± 1.2 vs 9.3 ± 3.0 , $P<0.001$), and the mates/total mounts ratio (0.3 ± 0.1 vs 0.4 ± 0.1 , $P<0.001$), BJ and AJ respectively. Anogenital sniffings (15.0 ± 3.0), flehmen (2.6 ± 0.8) and mounts with ejaculation (2.1 ± 0.5) were not affected. The number of lateral approaches decreased after joining (60.0 ± 12.2 vs 57.0 ± 14.0 , $P<0.05$). We concluded that after joining unknown rams there is an increase in rams' sexual behaviour when tested alone with oestrous ewes. This change in sexual strategy may be due to the lack of competition during sexual tests.

