

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**COMPORTAMIENTO SEXUAL Y CONCENTRACIÓN SÉRICA DE
TESTOSTERONA EN CARNEROS QUE FUERON CRIADOS
ARTIFICIALMENTE O CON SUS MADRES**

Por

Santiago ALONSO JAUREGUY

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: PRODUCCIÓN ANIMAL

Ensayo Experimental

Montevideo
Uruguay
2017

|

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: _____

Dr. Alejo Menchaca

Segundo miembro (Tutor): _____

Dr. Juan Pablo Damián

Tercer miembro: _____

Dr. Danilo Fila

Cuarto miembro (Co – Tutor): _____

Dr. Rodolfo Ungerfeld

Fecha: ___12/12/2017_____

Autor: _____

Br. Santiago Alonso Jaureguy

|

DEDICATORIA

"A mis padres por su gran apoyo y cariño"

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, padres, hermano y abuelos por apoyarme siempre en este largo camino. También a todos los amigos que me deja esta linda carrera que fueron los que de una manera u otra este camino se hiciera más corto. A todos los docentes y funcionarios de facultad que tuve el placer de compartir clases, etc. con ellos. Con respecto al trabajo final agradecer a Juan Pablo por su dedicación y disponibilidad, al igual que a Rodolfo por su ayuda y aportes que fueron fundamentales en la realización del trabajo para que saliera lo mejor posible. También agradecer a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo para que se pudiera realizar el proyecto. Por ultimo agradecer a funcionarios de INIA La Estanzuela que de diferente manera ayudaron para que este trabajo se pudiera realizar.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
LISTA DE FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	7
SUMMARY	8
1 INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 <i>Factores endocrinos que regulan comportamiento sexual</i>	9
1.2 <i>Variaciones estacionales en comportamiento sexual</i>	10
1.3 <i>Factores sociales que afectan el comportamiento sexual</i>	11
2 HIPÓTESIS	14
3 OBJETIVO.....	15
4 Materiales y Métodos.....	16
4.1 Evaluación del comportamiento sexual.....	16
4.2 Muestras de sangre y determinación de testosterona.....	16
4.3 <i>Análisis estadísticos</i>	17
5 RESULTADOS	18
5.1 Estacion no reproductiva	18
5.1.1 Peso corporal	18
5.1.2 Concentración sérica de testosterona.....	18
5.1.3 Comportamiento sexual.....	18
5.2 Estacion reproductiva	18
5.2.1 Peso corporal	18
5.2.2 Concentración sérica de testosterona.....	19
5.2.3 Comportamiento sexual.....	19
6 Discusión.....	22
7 Conclusión.....	25
8 Referencias	26

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Peso corporal (A y C) y concentración sérica de testosterona (B y D) de carneros criados artificialmente (CA: -□-) o criados con sus madres (CM: -●-) durante la estación no reproductiva (A y B) y durante la estación reproductiva (C y D). Diferentes letras entre semanas: $P < 0,05$	19
Figura 2. Acercamientos ano-genitales (A y D), acercamientos laterales (B y E) y flehmen de carneros criados artificialmente (CA: -□-) o criados con sus madres (CM: -●-), durante la estación no reproductiva (A, B y C) y durante la estación reproductiva (D, E y F). Diferentes letras entre semanas: $P < 0,05$. Asteriscos indican diferencias entre grupos para la misma sem: * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.	20
Figura 3. Intentos de monta (A y D), Montas (B y E) y montas con eyaculación de carneros criados artificialmente (CA: -□-) y criados con sus madres (CM: -●-), durante la estación no reproductiva (A, B y C) y durante la estación reproductiva (D, E y F). Diferentes letras entre semanas: $P < 0,05$.	21

RESUMEN

Dentro de los factores sociales, el vínculo con la madre tiene un rol fundamental en el desarrollo y rendimiento sexual de los carneros hasta la pubertad. En nuestros sistemas productivos se realizan destetes tempranos de los corderos con el objetivo de lograr una recuperación de la hembra para una posterior estación de cría exitosa, pero existen escasos trabajos que estudien las consecuencias generadas por el destete sobre el desempeño reproductivo de estos futuros carneros. El objetivo de la tesis fue determinar si el destete y la cría artificial con la madre durante la lactación afecta el comportamiento sexual y concentración de testosterona en la etapa adulta. Se utilizaron 27 carneros de la raza Ideal, que fueron adjudicados a dos grupos experimentales: un grupo de corderos fueron separados de sus madres a las 24-36 h de nacidos y criados artificialmente con leche de oveja administrada en ubres artificiales CA (n=14); el otro grupo de corderos fue criado por sus madres CM (n=13). El desleche de los CA y el destete de los CM se realizó a la edad de 75 días. Ambos grupos se mantuvieron en condiciones similares en un mismo potrero dividido en dos, realizándose las evaluaciones comportamentales desde la semana 42 a la 90 de vida, dividiéndose este periodo en primera estación no reproductiva y segunda estación reproductiva. Se registró el peso corporal y se obtuvieron muestras de sangre cada 15-20 días. A partir de las muestras de sangre se obtuvo suero para la determinación de la concentración de testosterona. Se evaluó el comportamiento sexual en tests de corral frente a una hembra en celo inducido cada 15-20 días. En la estación no reproductiva, los carneros CM desplegaron más olfateos ano-genitales (CM: $5,3 \pm 0,4$ vs CA: $4,2 \pm 0,4$, $P=0,04$) y montas (CM: $1,8 \pm 0,2$ vs CA: $1,2 \pm 0,2$, $P=0,002$) que los CA. Durante la estación reproductiva, los carneros CM también desplegaron más olfateos ano-genitales (CM: $5,7 \pm 0,5$ vs CA: $4,3 \pm 0,5$, $P=0,005$), flehmen (CM: $1,1 \pm 0,2$ vs CA: $0,7 \pm 0,2$, $P=0,03$), intentos de monta (CM: $2,1 \pm 0,2$ vs CA: $1,4 \pm 0,2$, $P=0,04$) y montas con mayor frecuencia (CM: $8,8 \pm 0,9$ vs CA: $6,6 \pm 0,9$, $P=0,08$) que los carneros CA. En conclusión, la presencia de la madre durante la lactancia influye positivamente en el desempeño sexual a largo plazo de carneros adultos.

SUMMARY

Within the social factors, the bond with the mother plays a fundamental role in the development and sexual performance of rams until puberty. In our production systems, the lambs are weaned early in order to achieve a recovery of the female for a successful breeding season, but there are few studies that study the consequences of weaning on the reproductive performance of these future sheep. The objective of this thesis was to determine whether weaning and artificial breeding with the mother during lactation affects the sexual behavior and concentration of testosterone in the adult stage. We used 27 rams of the Ideal breed, which were assigned to two experimental groups: a group of lambs were separated from their mothers at 24-36 h of birth and artificially reared with sheep's milk administered in CA artificial udders ($n = 14$); the other group of lambs was raised by their CM mothers ($n = 13$). The weaning of CA and weaning of CM were performed at the age of 75 days. Both groups were maintained in similar conditions in the same paddock divided in two, performing the behavioral evaluations from week 42 to 90 of life, this period being divided into the first non-reproductive season and the second reproductive season. Body weight was recorded and blood samples were obtained every 15-20 days. Serum was obtained from the blood samples to determine the concentration of testosterone. Sexual behavior was evaluated in corral tests against a female in induced estrus every 15-20 days. In the non-breeding season, CM sheep displayed more ano-genital sniffs (CM: 5.3 ± 0.4 vs CA: 4.2 ± 0.4 , $P = 0.04$) and mounts (CM: 1.8 ± 0.2 vs CA: 1.2 ± 0.2 , $P = 0.002$) than the CA. During the breeding season, CM sheep also exhibited more ano-genital sniffs (CM: 5.7 ± 0.5 vs CA: 4.3 ± 0.5 , $P = 0.005$), flehmen (CM: 1.1 ± 0.2 vs CA: 0.7 ± 0.2 , $P = 0.03$), attempts to mount (CM: 2.1 ± 0.2 vs CA: 1.4 ± 0.2 , $P = 0.04$) and mounts more frequently (CM: 8.8 ± 0.9 vs CA: 6.6 ± 0.9 , $P = 0.08$) than CA rams. In conclusion, the presence of the mother during lactation positively influences the long-term sexual performance of adult rams.

1 INTRODUCCIÓN

En ovinos factores como la raza, edad, estado nutricional, variaciones debidas a estados patológicos, la estación y los factores sociales pueden afectar el desarrollo y posterior desempeño reproductivo (Mandiki y col., 1998). Dentro de estos factores en el ovino cabe resaltar los factores sociales; se observó que la dominancia (Ungerfeld y González-Pensado, 2008), el contacto o no con hembras (Zenchak y col., 1981; Casteilla y col., 1987), y la exposición o no a hembras en celo (Price y col., 1996) afectan la actividad sexual de los carneros en la etapa adulta.

La presencia y el vínculo entre la madre y su cría son de fundamental importancia para el desarrollo posterior de la misma. La madre provee comida, calor, refugio y protección de los depredadores, por lo que influye en la supervivencia del cordero hasta el destete. La madre también influye en el desarrollo fisiológico, sensorial, emocional y social de los recién nacidos (Lévy y Keller, 2008). A pesar de que el factor social de la madre es de gran importancia para el neonato, existe escasa información en ovinos que demuestre como la cría con su madre durante la lactación afecta la actividad sexual y endocrina durante la etapa adulta. Damián y col. (2015) demostraron que los corderos criados por sus madres son más precoces y tienen un mayor despliegue de comportamiento sexual durante el desarrollo que los criados artificialmente.

1.1 Factores endocrinos que regulan comportamiento sexual

El comportamiento sexual está regulado por las hormonas sexuales (Fourie y col., 2005). La testosterona tiene un rol fundamental en la diferenciación sexual, anatómica y función reproductiva del macho (Haqq y Donahoe, 1998). En estudios basados en la castración de machos pre púber se comprobó la falta de desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, acumulación de grasa corporal y ausencia de la libido en animales castrados (Emmens, 1969; Brown y col., 1994). Banks (1964) mostró que cuando los carneros que habían sido previamente castrados, fueron inyectados con testosterona exógena exhibieron el patrón completo de cortejo masculino, con excepción de la intromisión y la eyaculación. Más recientemente, Parthasarathy y col. (2002) comprobaron por medio de la inmunización contra la GnRH (inmunocastración) la disminución temporaria de los niveles plasmáticos de testosterona, además de una disminución en la expresión del comportamiento de monta y en el número de eyaculaciones.

Otra hormona importante en el comportamiento sexual del carnero es la melatonina, la que transmite la información de los cambios en el fotoperiodo. Su secreción aumenta durante la noche, por lo que en los ovinos, el aumento en las horas de secreción favorece la secreción de GnRH (Sanford y Baker, 2010). También la oxitocina, hormona que entre otras cosas está relacionada

con las contracciones del epidídimo durante la eyaculación, la producción de espermatozoides, y la esteroidogénesis, presenta un aumento en su concentración durante la cópula (Sharma y col., 1972; Knight, 1983).

1.2 Variaciones estacionales en comportamiento sexual

El ovino presenta una estacionalidad reproductiva concentrando los partos en la primavera (Lincoln y Short, 1980). Los cambios del fotoperiodo activan la glándula pineal, y la melatonina secretada por esta sobre el eje hipotálamo-hipófisis, determinando una menor sensibilidad a la retroalimentación negativa de los esteroides gonadales en días cortos, tanto en machos como en hembras. La información lumínica es transmitida de las células de la retina del ojo, a través de los nervios ópticos al núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado en el hipotálamo anterior (Forsberg, 2002). La información generada en el NSQ es transmitida vía el núcleo paraventricular y el ganglio cervical superior a la glándula pineal, la que secreta melatonina, hormona que participa en la regulación de la actividad hipotálamo-hipófisisgonadal (Hastings y col., 1985; Arendt, 1986). La secreción nocturna de la melatonina sigue un ritmo circadiano endógeno y actúa como un mensaje pasivo que provee información al eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, activando o inhibiendo su acción (Reiter, 1993).

Por otra parte, Pelletier y Ortavant (1975) encontraron una relación inversa entre la concentración plasmática de LH y la duración del día en carneros enteros y castrados. Concentraciones séricas elevadas de LH y FSH en los carneros expuestos a fotoperiodos cortos tienen un efecto directo sobre el crecimiento y la función testicular (Schanbacher y Ford, 1979). Estas hormonas serían las responsables del crecimiento testicular que se da en los fotoperiodos cortos, ya que aumentan la síntesis proteica y el número celular dentro de la gónada.

Estos cambios comportamentales y fisiológicos no son tan pronunciados en el macho como en la hembra. A diferencia de la oveja el carnero produce gametos durante todo el año, aunque en días largos la producción de semen es de peor calidad y cantidad (Fowler, 1965; Schanbacher, 1979).

También los cambios estacionales en la actividad reproductiva de los carneros son menos evidentes en razas que se desarrollaron más cerca de la zona ecuatorial. Esto se debe a que, en estas áreas, los cambios en el fotoperiodo son menos pronunciados (Souza y col., 2007). En términos generales, cuanto más cercano a los polos geográficos es el origen de una raza, más marcada es la estacionalidad reproductiva que presenta (Bronson, 1988).

1.3 Factores sociales que afectan el comportamiento sexual

Dentro de los factores sociales vinculados al comportamiento sexual, las experiencias sexuales tempranas pueden afectar el desarrollo reproductivo, y por lo tanto el desempeño sexual (Scott y col., 1987). Los carneros jóvenes inexpertos presentan menor interés cuando son expuestos por primera vez a hembras, mejorando el desempeño sexual si son previamente expuestos en la pubertad (Price y col., 1994). Illius y col., (1976a) determinaron que la exposición continua de corderos a ovejas durante los primeros seis meses de vida induce un aumento en las concentraciones de testosterona y en el tamaño testicular. En los sistemas de cría ovina, una práctica común de manejo realizada durante el destete, es la separación de los corderos por sexos. Sin embargo, para los machos es importante tener experiencias heterosexuales durante el periodo comprendido entre el destete y el año de edad, lo que facilita que la preferencia sexual de los carneros sea hacia hembras y no hacia machos, además de adelantar el desarrollo de la conducta sexual (Katz y col., 1988). Años después, Price y col. (1991, 1994) demostraron que corderos que tuvieron contacto con ovejas en celo entre los 7 y 9 meses de edad manifestaron un mayor interés sexual frente a ovejas cuando adultos que aquellos que no tuvieron contacto, y que la falta de exposición a ovejas durante el desarrollo temprano pudo inhibir la expresión de la conducta sexual en carneros. También Stellflug y Lewis (2007), concluyeron que la exposición a ovejas en celo de corderos que entraban en la pubertad mejoró su posterior actividad sexual. La experiencia sexual no altera los patrones motores del comportamiento de cortejo, pero actúa principalmente sobre la frecuencia de manifestación de cada comportamiento, así como en la motivación y eficiencia del apareamiento (Hafez y Hafez, 2002). Carneros jóvenes e inexpertos realizan más olfateos, reflejos de flehmen, acercamientos laterales y montas incompletas que los adultos (Simitzis y col., 2006). Sin embargo, Rosa y col. (2000) observaron que el comportamiento sexual de carneros adultos fue más influenciado por los niveles de testosterona plasmática que por el hecho de haber sido previamente expuestos o no a hembras. Los machos con mayor concentración de testosterona mantuvieron el comportamiento reproductivo más tiempo que los que presentaron bajas concentraciones.

Otro factor relevante vinculado al comportamiento sexual es la jerarquía. Ungerfeld y González-Pensado (2008) reportaron que los corderos de alto rango social fueron más precoces que los de bajo rango, lo que se evidenció en que los corderos de alto rango aumentaron su peso corporal, la circunferencia escrotal y la producción de semen antes que los de bajo rango. Además, los corderos de alto rango desplegaron mayor frecuencia de montas que los corderos de bajo rango (Ungerfeld y González-Pensado, 2008).

La presencia de un carnero de alto rango jerárquico puede inhibir el comportamiento sexual de los carneros de bajo rango (Tilbrook y col., 1987). El rango social es de gran importancia en la reproducción, ya que la interferencia que se genera entre los machos durante la actividad de monta puede reducir la fertilidad de la majada, debido a que la dominancia social no es indicativa de fertilidad en los machos (Craig, 1981; Preston y col., 2003). Fowler y Jenkins (1976) demostraron que cuando el carnero de mayor rango jerárquico es infértil disminuye la tasa de preñez de la majada.

Poindron y Le Neindre (1980) y Levy y Keller (2008) demostraron que la madre es el factor social de mayor relevancia para la cría por proveer comida, calor, refugio, protección frente a los depredadores y por tanto, aumento de la probabilidad de supervivencia hasta el destete. Es la primera congénere que los jóvenes encuentran y por tanto, las relaciones sociales posteriores están influidas por estas primeras interacciones. La ingesta de calostro como el lamido materno hacia las crías comienza luego del parto y evita la pérdida de calor corporal, estimula la circulación, el tono muscular y la puesta en pie de las crías. El área perineal parece ser la más sensible al lamido, estimulando la actividad y el movimiento de las crías, por lo que la oveja persiste en lamer esa zona (Sharafeldin y Kandeel, 1971).

La mayoría de los trabajos que evaluaron el efecto del vínculo madre-cría sobre el comportamiento sexual fueron realizados en roedores. Fillion y Blass (1986) evaluaron la influencia de los olores asociados con la succión experimentada durante la lactancia en el comportamiento sexual de esas crías cuando llegan a la edad adulta. Crías de rata fueron amamantadas por sus madres cuyos olores vaginales y de pezones fueron alterados con olor a citral (3,7-Dimethyl2,6-octadienal I). A los cien días de destetados se los sometió a pruebas de apareamiento con hembras sexualmente receptivas, unas tratadas con citral antes de la prueba, y otras control sin tratamiento, y observaron que los machos eyaculaban más rápidamente cuando se los juntaba con la hembra tratada. Estos resultados demuestran que hay factores maternos en las primeras etapas de vida que influyen sobre la conducta sexual cuando los animales llegan a adultos. En otro trabajo Birke y Sadler (1987) y Moore (1984) determinaron que los hijos de madres más lamedoras, es decir, que los lamian más frecuentemente despliegan más eficientemente su comportamiento sexual.

En ovinos, Kendrick y col. (1998) investigaron las influencias maternas en el desarrollo del comportamiento utilizando la adopción cruzada entre ovejas y cabras. En la etapa adulta los corderos que fueron criados por cabras prefirieron socializar y montar a cabras más que a ovejas, inclusive después de haber convivido 3 años con ovejas. Los autores expresaron que el vínculo emocional entre la madre y su descendencia masculina, más que otros factores sociales o genéticos puede determinar alteraciones irreversibles de la especie ovina, tanto en el ámbito social como sexual. En otro estudio realizado por Al-

Nakib y col. (1986), se analizaron los efectos que tenían los diferentes métodos de crianza, artificial o con la madre y la presencia o no de hembras de la misma edad durante la crianza, sobre el desarrollo y comportamiento sexual en corderos machos. Los animales criados con las madres (NR) presentaron un mayor crecimiento corporal, mayor tamaño testicular y mayor concentración sérica de testosterona que los animales criados artificialmente (AR). Por otra parte, los corderos AR mostraron interés sexual más temprano en ovejas en celo que los NR. Los niveles de testosterona aumentaron con la edad en ambos grupos, pero los animales NR experimentaron un ligero descenso en la concentración sérica de testosterona a los 6 meses de edad, coincidiendo con el momento del destete. Las diferencias encontradas en este trabajo a favor de los corderos NR podrían estar parcialmente explicadas por el peso, ya que ganaron peso más rápidamente.

Recientemente, Damián y col. (2015) demostraron que los carneros que fueron criados por sus madres fueron más precoces en el despliegue del comportamiento sexual que los criados artificialmente. En este trabajo se planteó manejar dos grupos de carneros, uno criado artificialmente y otro criado con su madre. Para esto se realizó el destete al día de nacidos en un grupo y a los 2,5 meses de vida en el otro, para demostrar si la presencia y vínculo con la madre durante la etapa de lactación genera efectos a largo plazo en el comportamiento sexual de los carneros.

2 HIPÓTESIS

Los carneros que fueron criados por sus madres durante la lactancia despliegan mayor frecuencia de comportamientos sexuales frente a hembras en celo y una mayor concentración sérica de testosterona durante la etapa adulta que los carneros que fueron criados artificialmente.

3 OBJETIVO

Determinar si los corderos criados por sus madres despliegan mayor comportamiento sexual frente a hembras en celo y presentan mayor concentración de testosterona en la etapa adulta que los criados artificialmente.

4 Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la Unidad de Ovinos del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental “La Estanzuela”, Colonia, Uruguay. Se utilizaron 27 corderos de la raza Ideal, que fueron adjudicados a dos grupos experimentales: un grupo de corderos fue separados de sus madres a las 24-36 h de nacidos y criados artificialmente con leche de oveja administrada en ubres artificiales CA (n=14); y otro grupo de corderos fue criado por sus madres CM (n=13). Los corderos fueron criados de acuerdo a lo reportado por Damián y col. (2015). El desleche de los CA y el destete de los CM se realizó a la edad de 75 días. Ambos grupos se mantuvieron en condiciones similares en un mismo potrero dividido en dos. Para evitar diferencias en el ambiente social los carneros CA fueron acompañados por 4 ovejas de la misma raza con corderos al pie. Estos ovinos son los mismos utilizados por Damián y col. (2015), evaluados desde a semana 42 hasta la semana 90 de edad. Durante este período los carneros fueron pesados cada 15-20 días.

4.1 Evaluación del comportamiento sexual

El comportamiento sexual de los carneros frente a hembras en celo se evaluó cada 15-20 días en corrales (de 5 x 5 m). A las ovejas se les indujo celo mediante la aplicación de dispositivos intravaginales impregnadas con medroxiprogesterona, colocadas durante 7 días administrando benzoato de estradiol cada 12 h a partir del retiro. Los carneros de cada grupo fueron ingresando en forma individual y alternada a los corrales y permanecieron durante 20 min con la hembra. Al finalizar cada prueba cada hembra permaneció con la misma cantidad de machos de cada grupo. Los observadores registraron los siguientes comportamientos: número de olfateos ano-genitales (OAG), acercamientos laterales (AL), flehmen (F), intentos de monta (IM), montas (M) y montas con eyaculación (ME), el tiempo a la primera monta con eyaculación y se calculó del rendimiento de montas (ME/total de montas).

4.2 Muestras de sangre y determinación de testosterona

Las muestras de sangre se obtuvieron cada 15-20 días mediante venopunción yugular. Las mismas se centrifugaron a 1500 rpm por 15 min para obtener suero, el que fue almacenado a -20°C hasta la determinación hormonal. Se determinó las concentraciones séricas de testosterona por RIA, utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG, Count-A-Count, Siemens, Los Ángeles, CA, EEUU).

4.3 *Análisis estadísticos*

Las frecuencias de los comportamientos sexuales, el peso corporal y las concentraciones séricas de testosterona fueron comparados entre ambos grupos (CA y CM) por ANOVA para mediciones repetidas, donde se incluyó el efecto del grupo, del tiempo y la interacción entre ambos.

5 RESULTADOS

5.1 Estación no reproductiva

5.1.1 Peso corporal

El tratamiento no afectó el peso corporal. El peso corporal se incrementó con la edad ($P < 0,0001$) (Fig. 1 A). Hubo interacción entre el tratamiento y el tiempo en el peso corporal ($P = 0,02$). El peso corporal disminuyó de la semana 50 a la semana 52 ($P = 0,043$) y de la semana 62 a la 64 ($P = 0,002$) en el grupo CM, mientras que no cambió en el grupo CA.

5.1.2 Concentración sérica de testosterona

No hubo efecto del tratamiento ni tampoco interacción entre el tratamiento y el tiempo sobre la concentración de testosterona. El tiempo afectó las concentraciones séricas de testosterona ($P = 0,006$): se registró el mayor valor en la semana 54 (Fig. 1 B).

5.1.3 Comportamiento sexual

Los CM presentaron mayor frecuencia de OAG ($P = 0.04$) y ME ($P = 0.02$) que los CA (Fig 2 y Fig 3). Todos los comportamientos aumentaron con la edad. Solo hubo interacción entre tratamiento y tiempo para ME ($P=0.04$): los carneros CM presentaron mayor frecuencia de ME en las semanas 50, 52 y 56 que los CA.

5.2 Estación reproductiva

5.2.1 Peso corporal

El peso corporal no fue afectado por el tratamiento. Hubo interacción entre tratamiento y tiempo en el peso corporal ($P = 0,02$). En el grupo CM el peso corporal aumentó de la semana 69 a la 72 ($P = 0,001$) y de la semana 85 a la 88 ($P = 0,004$), no cambiando entre esas semanas en el grupo CA. Por otro lado, en el grupo CA, el peso corporal disminuyó de la semana 72 a la 74 ($P = 0,004$) y aumentó de la semana 74 a la 76 ($P = 0,0001$), mientras que en el grupo CM el peso corporal no cambió entre esas semanas (Fig. 1 C). El peso

corporal aumentó con el tiempo ($P < 0,0001$), registrando su mayor valor en la semana 90 (Fig. 1 C).

5.2.2 Concentración sérica de testosterona

No hubo efecto de tratamiento, ni interacción entre el tratamiento y el tiempo sobre la concentración de testosterona. Las concentraciones séricas de testosterona cambiaron con el tiempo ($P < 0,0001$), registrándose el mayor valor en la semana 78 (Fig. 1 D).

5.2.3 Comportamiento sexual

Los CM presentaron mayor frecuencia de OAG ($P=0,005$), IM ($P=0,04$) y M ($P=0,08$) que los CA. El tiempo afectó la frecuencia de los comportamientos sexuales ($P=0,015$). No hubo interacción entre grupo y tiempo en ninguna de las variables.

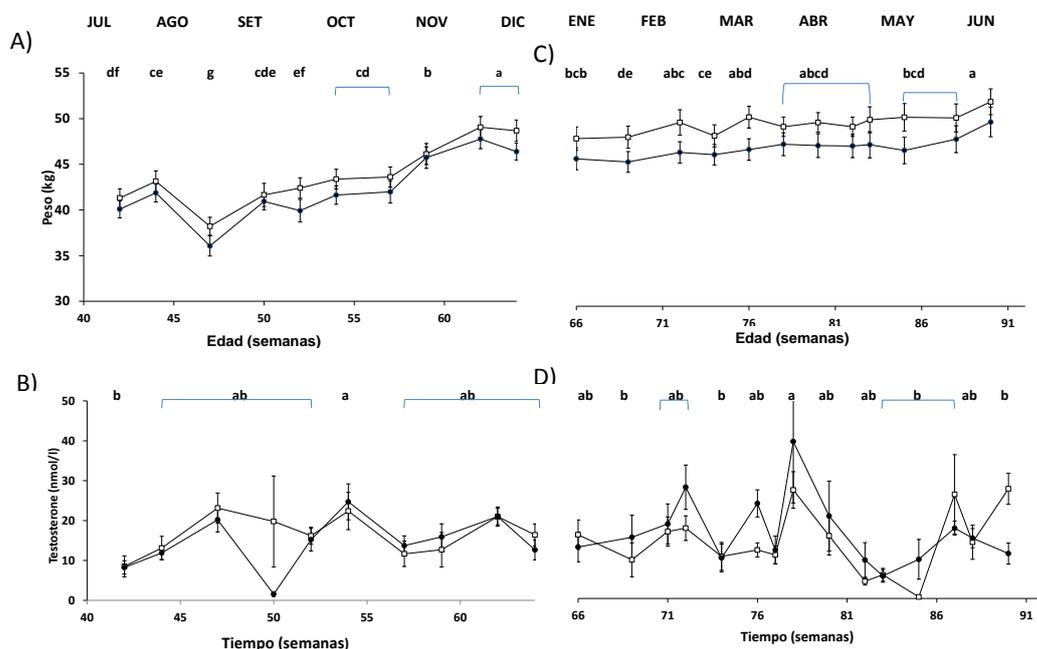


Figura 1. Peso corporal (A y C) y concentración sérica de testosterona (B y D) de carneros criados artificialmente (CA: -□-) o criados con sus madres (CM: -●-), durante la estación no reproductiva (A y B) y durante la estación reproductiva (C y D). Diferentes letras entre semanas: $P < 0.05$

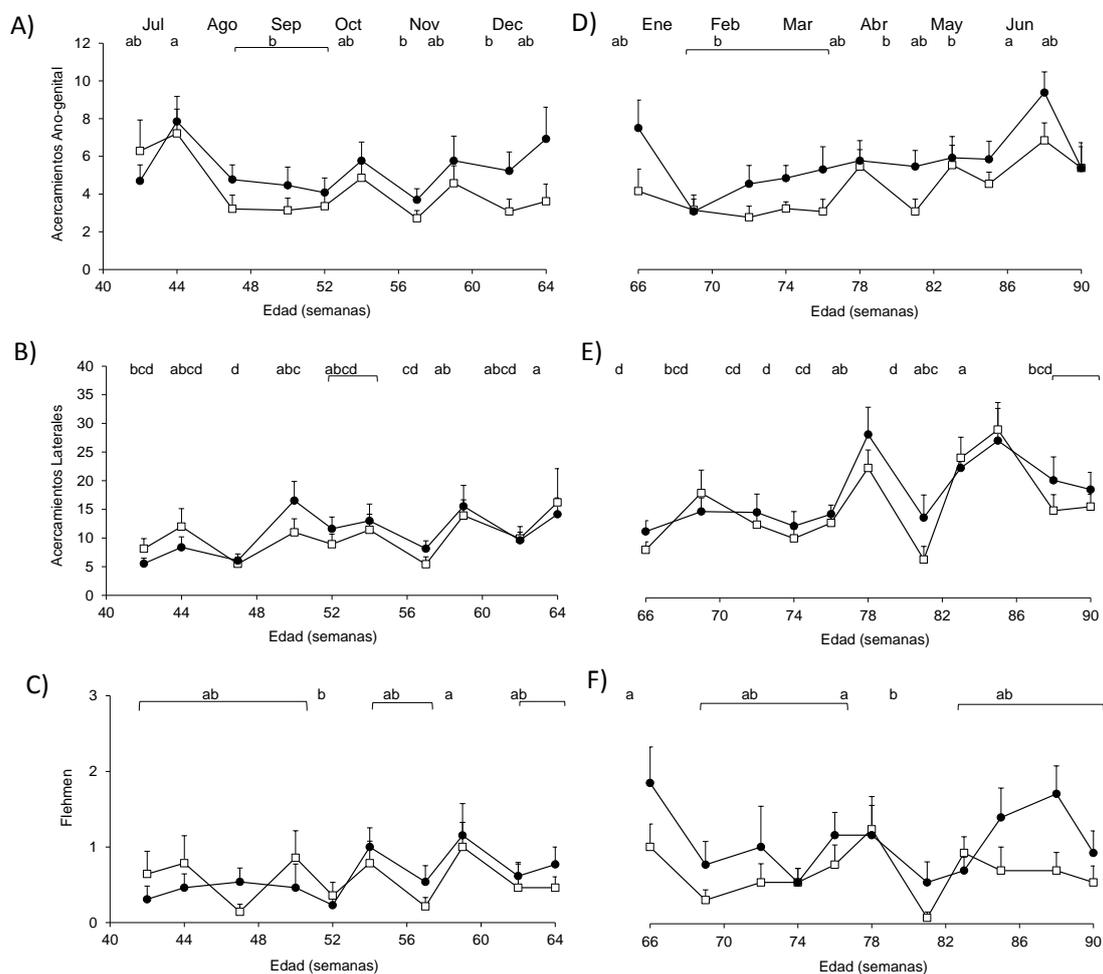


Figura 2. Acercamientos ano-genitales (A y D), acercamientos laterales (B y E) y flehmen de carneros criados artificialmente (CA: -□-) o criados con sus madres (CM: -●-), durante la estación no reproductiva (A, B y C) y durante la estación reproductiva (D, E y F). Diferentes letras entre semanas: $P < 0.05$. Asteriscos indican diferencias entre grupos para la misma semana: * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

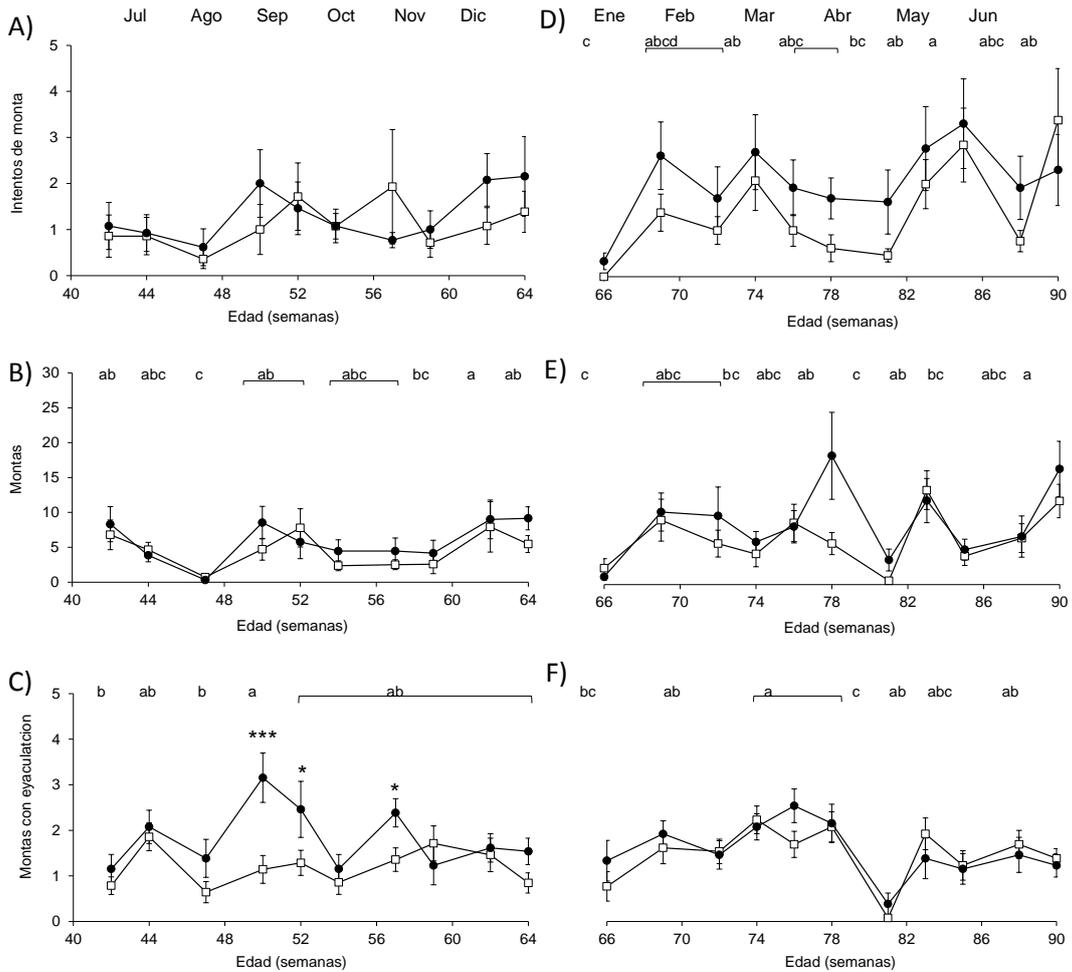


Figura 3. Intentos de monta (A y D), montas (B y E) y montas con eyaculación de carneros criados artificialmente (CA: -□-) o criados con sus madres (CM: -●-), durante la estación no reproductiva (A, B y C) y durante la estación reproductiva (D, E y F). Diferentes letras entre semanas: $P < 0.05$.

6 Discusión

En esta tesis se demostró que la presencia y vínculo con la madre durante la lactancia influyó en el comportamiento sexual de los carneros durante la etapa adulta. Los carneros CM presentaron mayor despliegue de algunos comportamientos sexuales durante la estación no reproductiva y durante la estación reproductiva que los CA. Esta diferencia se expresó positivamente en el desempeño sexual frente a ovejas en celo evidenciándose por la mayor frecuencia de AL, IM, M y MT a favor de los CM. Esta diferencia permite sugerir que los carneros CM tendrían un mejor desempeño al momento de la encarnerada. La presencia y vínculo con la madre durante la lactación puede ayudar a explicar parte de la gran variabilidad individual del comportamiento sexual de carneros.

La falta de interacción maternal durante la lactancia, podría haber afectado negativamente el desarrollo neuronal normal. A nivel cerebral, Zhang y col. (2002) obtuvieron resultados que indican que la privación materna puede alterar el desarrollo normal del cerebro mediante el aumento de la muerte celular de neuronas y células gliales. Años más tarde Monroy y col. (2010) describieron que la separación materna induce cambios neuroanatómicos, altera la morfología dendrítica de las neuronas en la corteza prefrontal y en el hipocampo en su progenie masculina. Estas modificaciones anatómicas pueden corresponder a los comportamientos alterados observados en los animales separados de sus madres. Las áreas cerebrales más importantes involucradas en el comportamiento reproductivo en varias especies son los núcleos amigdalinos mediales y corticales, el área preóptica media y el núcleo ventromedial del hipotálamo. Muchas otras áreas, como por ejemplo los bulbos olfatorios, el núcleo accumbens y paraventricular del hipotálamo y el área gris han sido involucradas en el circuito neuronal que controla el comportamiento reproductivo, además de neurotransmisores como el óxido nítrico y glutamato y neuropeptidos como la oxitocina y colecistoquinina (Olazábal, 2002). Además Borja y Fabre-NyS (2012) reportaron que estas mismas áreas juegan un rol importante en el comportamiento sexual en carneros. Tomando esto en cuenta se puede especular con que los corderos CA podrían haber sido afectados en alguno de estos niveles determinando un menor comportamiento sexual que los CM.

En nuestro trabajo no se encontró diferencia en los niveles séricos de testosterona. Este resultado coincide con el reportado años atrás por Illius y col. (1976), quienes observaron que el patrón de secreción de testosterona en corderos machos no se modifica por el entorno social y método de crianza (criados naturalmente o artificialmente). Por tanto, los carneros CM serían más sensibles a la testosterona que los CA, lo que concuerda con la observación de que la testosterona es menos eficaz para ejercer una retroalimentación

negativa efectiva en el eje hipotálamo-hipófisis en carneros jóvenes que en carneros adultos (Sanford y col., 1982). D'occhino (1982) demostró que el comportamiento sexual mostrado por los carneros adultos requiere concentraciones mínimas de testosterona. Si las concentraciones de testosterona son mayores que el mínimo requerido, el comportamiento no está directamente relacionado con las concentraciones de esta hormona (Schanbacher y Lunstra, 1976). También, Perkins y Fitzgerald (1994) no encontraron diferencias en las concentraciones de testosterona entre los carneros con mayor y menor rendimiento sexual sobre la base de capacidad de servicio. Por lo tanto, las diferencias en el comportamiento sexual observado entre CM y CA no están relacionadas directamente con una producción de testosterona, sino probablemente a diferencias en la sensibilidad a la testosterona a nivel central.

Según nuestro conocimiento, no encontramos trabajos que hayan estudiado cómo la presencia y vínculo con la madre durante la lactancia afecta el comportamiento reproductivo durante la vida adulta de los carneros. Experimentos de Moore (1982; 1984) en roedores sugieren que las diferencias en el comportamiento materno hacia la descendencia masculina podrían contribuir al desarrollo del comportamiento sexual en la vida posterior. Una posible explicación de este efecto, sería que la estimulación diaria del lamido materno de las ratas a las crías durante todo el periodo de lactancia contribuye al desarrollo de la tasa de copulación cuando adultos. Lovic y Fleming (2004) encontraron déficits cognitivos en ratas adultas que fueron criadas artificialmente criadas en comparación con ratas criadas con la madre. Además, en este trabajo los autores observaron que acariciando los cachorros criados artificialmente parecen revertir el déficit cognitivo asociado con la cría artificial. En conjunto, estos datos proporcionan evidencia directa de que estimulación táctil en roedores durante el período posnatal puede tener secuelas de larga duración en múltiples dominios de comportamiento. Estos hallazgos son consistentes con lo de Harlow y Zimmermann (1959) quienes observaron que en monos criados artificialmente el contacto táctil con una madre sustituta inanimada desempeña un papel importante en el desarrollo emocional y la respuesta de miedo de la descendencia. En la especie ovina el acicalamiento del cordero por la madre se presenta inmediatamente luego del nacimiento, lo que es importante porque retira el líquido presente en el pelaje reduciendo la pérdida de calor del cordero, además de que también desempeña una función importante en la estimulación de la cría a incorporarse y mamar por primera vez (Blauvelt y col., 1960). El área perineal parece ser la más sensible al lamido, estimulando la actividad y el movimiento de las crías, por lo cual la oveja persiste en lamer esa zona (Sharafeldin y Kandeel, 1971). En nuestro trabajo los carneros CA permanecieron las primeras 24 a 36 h de vida con sus madres permitiéndoles la ingestión de calostro. Sin embargo, Vázquez y Orihuela (2015) demostraron que en ovinos la estimulación materna

por el lamido en la zona perianal no influye en el posterior comportamiento reproductivo. Por lo tanto, el menor despliegue del comportamiento sexual en los CA pueda estar asociado a otros factores más que a la estimulación física del lamido maternal. En esta tesis nosotros evaluamos el efecto de la presencia y el vínculo con la madre durante la lactación sobre el desarrollo sexual de los carneros en la etapa adulta. Si bien la tesis no tuvo por objetivo conocer los mecanismos por el cual la madre genera tales efectos sobre el comportamiento sexual de los carneros, no podemos descartar que diferentes estímulos olfativos, auditivos, táctiles, visuales, sociales o una interacción entre estos puedan estar implicados en los resultados obtenidos. Se necesitan futuros trabajos para conocer en detalle como la madre genera esos efectos en la cría.

7 Conclusión

En conclusión, la presencia de la madre durante la lactancia influye positivamente en el desempeño sexual a largo plazo de carneros adultos.

8 Referencias

1. Al-Nakib FM, Lodge GA, Owen JB. (1986). A study of sexual development in ram lambs. *Animal Production*, 43: 459-468.
2. Arendt, J. (1986). Role of the pineal gland and melatonin in seasonal reproductive function in mammals. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*, 8: 266-320.
3. Banks EM. (1964). Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *ovis aries*. *Behaviour* 23: 249-279.
4. Birke L, Sadler D. (1987). Differences in maternal behavior of rats and the sociosexual development of the offspring. *Developmental Psychobiology*, 20(1): 85-99.
5. Blauvelt H, Richmond JB, Moore AU. (1960). The development of contact between mother and offspring in ungulates (domestic sheep and goats). *The Bulletin of the Ecological Society of America*, 41: 91.
6. Borja F, Fabre-Nys C. (2012). Brain structures involved in the sexual behaviour of Ile de France rams with different sexual preferences and levels of sexual activity. *Behavioural Brain Research*, 226(2): 411-419.
7. Bronson, F.H. (1988) Mammalian reproductive strategies: genes, photoperiod and latitude. *Reproduction, Nutrition, Development*. 28 (2B): 335-347.
8. Brown BW, Mattner PE, Carroll PA, Holland EJ, Paull DR, Hoskinson RM, Rigby RD. (1994). Immunization of sheep against GnRH early in life: effects on reproductive function and hormones in rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 101(1): 15-21.

9. Casteilla, L., Orgeur, P., Signoret, J. P. (1987). Effects of rearing conditions on sexual performance in the ram: practical use. *Applied Animal Behaviour Science*, 19(1): 111-118.
10. Craig JV. (1981). *Domestic Animal Behaviour: causes and implication of animal care and management*. I New Jersey Prestice-Hall. 364 p.
11. Damián y col. (2015). Reproductive and sexual behaviour development of dam or artificially reared male lambs. *Physiology & Behavior* 147. 47-53.
12. D'occhio, M. J., Schanbacher, B. D., Kinder, J. E. (1982). Relationship between serum testosterone concentration and patterns of luteinizing hormone secretion in male sheep. *Endocrinology*, 110(5): 1547-1554
13. Emmens, C. W. (1969). *Physiology of gonadal hormones and related synthetic compounds*. En: Cole HH, Cupps PT. *Reproduction in Domestic Animals*. New York. Academic press.
14. Fillion TJ, Blass EM. (1986). Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science*, 231(1): 729–731.
15. Forsberg, M. (2002). *Estacionalidad Reproductiva: El Significado de la Luz*. En: Ungerfeld, R. *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo. Melibea. V. 1. p. 121-138.
16. Fourie PJ, Schwalbach LM, Naser FW, Greyling JP. (2005). Relationship between body measurements and serum testosterone levels of Dorper rams. *Small Ruminant Research*, 56(1): 75-80.
17. Fowler DG, Jenkins LD. (1976). The effects of dominance and infertility of rams on reproductive performance. *Applied Animal Ethology*, 2(4): 327-337.

18. Fowler, D. G. (1965). Semen quality of Merino rams. 2. The effects of seasonal changes in day length on semen quality. *Animal Production Science*, 5(18): 247-251.
19. Hafez B, Hafez ES. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7^a ed. México. Mcgraw-hill. 591p.
20. Haqq CM, Donahoe PK. (1998). Regulation of sexual dimorphism in mammals. *Physiological. Reviews*, 78 (1): 1-33.
21. Harlow HF, Zimmermann RR. (1959). Affectional responses in the infant monkey; orphaned baby monkeys develop a strong and persistent attachment to inanimate surrogate mothers. *Science*, 130: 421-432.
22. Hastings, M. H., Herbert, J., Martensz, N. D., Roberts, A. C. (1985). Melatonin and the brain in photoperiodic mammals. *Ciba Found Symposium. V. 117*: 57-77.
23. Illius AW, Hayes NB, Lamming GE. (1976a). Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behavior in the ram in different social environment. *Journal of Reproduction and Fertility*, 48(1): 25-32.
24. Illius A W, Haynes N B, Purvis K, Lamming G E. (1976b). Plasma concentrations of testosterone in the developing ram in different social environments. *Journal of Reproduction and Fertility*, 48(1): 17-24.
25. Katz LS, Price EO, Wallach SJ, Zenchak JJ. (1988). Sexual performance of rams reared with or without females after weaning. *Journal of Animal Science*, 66(5):1166-1173.
26. Kendrick KM, Hinton MR, Atkins K. (1998). Mothers determine sexual preferences. *Nature*, 395(6699): 229-230.

27. Knight TW. (1983) Ram induced stimulation of ovarian and oestrous activity in anoestrous ewes, a review. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 43:7-11.
28. Lévy F, Keller M. (2008). *Neurobiology of Maternal Behavior in Sheep*. *Advances in the Study of Behavior*, 38: 399-437.
29. Lincoln, G. A., Short, R. V. (1980). Seasonal breeding: nature's contraceptive. *Recent Progress in Hormone Research*, 36: 1-52.
30. Lovic V, Fleming AS. (2004). Artificially-reared female rats show reduced prepulse inhibition and deficits in the attentional set shifting task – reversal of effects with maternal-like licking stimulation. *Behavioural Brain Research*, 148: 209-219.
31. Mandiki, S. N. M., Derycke, G., Bister, J. L., Paquay, R. (1998). Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams: 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity. *Small Ruminant Research*, 28(1): 67-79.
32. Monroy, E., Hernández-Torres, E., Flores, G. (2010). Maternal separation disrupts dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in male rat offspring. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 40(2): 93-101.
33. Moore CL. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology*, 17(4): 347-356.
34. Moore CL. (1982). Maternal behavior of rats is affected by hormonal condition of pups. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96(1): 123-129

35. Olazábal D. cap 16 (2002) Bases neurales del comportamiento sexual y maternal. En: Ungerfeld R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, v.1, 191-197 p.
36. Parthasarathy V, Price EO, Orihuela A, Dally M, Adams T. (2002). Passive immunization of rams (*Ovis aries*) against GnRH: effects on antibody titer, serum concentrations of testosterone, and sexual behavior. *Animal Reproduction Science*, 71(3): 203-215.
37. Pelletier, J., Ortavant, R. (1975). Photoperiodic control of LH release in the ram. *Acta Endocrinologica*, 78(3): 442-450.
38. Perkins A, Fitzgerald JA. (1994). The behavioral component of the ram effect: the influence of ram sexual behavior on the induction of estrus in anovulatory ewes. *Journal of Animal Science*; 72: 51–55.
39. Poindron P, Le Neindre P. (1980). Endocrine and sensory regulation of maternal behaviour in the ewe. *Advances in the Study of Behavior*, 11: 75-119.
40. Preston B, Stevenson I, Pemberton JM, Coltman DW, Wilson K.(2003) Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of Lond. Series B Biological Sciences*, 270(1515): 633-640.
41. Price, E. O., Borgwardt, R., Dally, M. R. (1996). Heterosexual experience differentially affects the expression of sexual behavior in 6- and 8-monthold ram lambs. *Applied Animal Behaviour Science*, 46(3): 193-199.
42. Price EO, Borgwardt R, Blackshaw JK, Blackshaw A, Dally MR, Erhard H. (1994). Effect of early experience on the sexual performance of yearling rams. *Applied Animal Behavior Science*, 42(1): 41-48.

43. Price E O, Estep D Q, Wallach S.J, Dally M R. (1991). Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *Journal of Animal Science*, 69(3): 1047-1052.
44. Reiter, R. J. (1993). The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*, 49(8): 654-664.
45. Rosa HJ, Juniper DT, Bryant MJ. (2000). The effect of exposure to oestrous ewes on rams sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 67(4): 293-305.
46. Sanford LM, Baker SJ. (2010) Prolactin regulation of testosterone secretion and testes growth in DLS rams at the onset of seasonal testicular recrudescence. *Reproduction*, 139(1):197-207.
47. Sanford, L. M., Palmer, W. M., Howland, B. E. (1982). Influence of age and breed on circulating LH, FSH and testosterone levels in the ram. *Canadian Journal of Animal Science*, 62(3): 767-776.
48. Schanbacher BD. (1979). Increased lamb production with rams exposed to short daylengths during the nonbreeding season. *Journal of Animal Science* 49: 927-932.
49. Schanbacher, B. D., Ford, J. J. (1979). Photoperiodic regulation of ovine spermatogenesis: relationship to serum hormones. *Biology of Reproduction*, 20(4): 719-726.
50. Schanbacher BD, Lunstra DD. (1976). Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finnish landrace and Suffolk rams. *Journal of Animal Science*, 43 (3): 644-650.

51. Scott R, Creel MS, Jack L, Albright MS. (1987). Early experience. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 3(2): 251-268.
52. Sharafeldin MA, Kandeel AA. (1971). Post-lambing maternal behaviour. *The Journal of Agricultural Science*, 77(1): 33-36.
53. Sharma SC, Fitzpatrick RJ, Ward WR. (1972). Coital-induced release of oxytocin in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility* ,31(3):488-489.
54. Simitzis PE, Deligeorgis SG, Bizelis JA. (2006). Effect of breed and age on sexual behaviour of rams. *Theriogenology* 65(8):1480-1491.
55. Souza, J. D., Campelo, J. E. G., Macedo, N. D., Leal, T. M., Sousa JR, A., Medeiros, R. M., Chaves, R. (2007). Biometria testicular, características seminais, libido e concentração de testosterona em ovinos da raça Santa Inês, criados a campo, na microrregião de Campo Maior, Piauí. *Ciência Veterinária Tropical*, 10(1): 21-28.
56. Stellflug JN, Lewis GS. (2007). Effects of early and late exposure to estrual ewes on ram sexual performance classifications. *Animal Reproduction Science*, 97(3): 295-302.
57. Tilbrook AJ, Cameron AW, Lindsay DR. (1987). The influence of ram mating preference and social interaction between rams on the proportion of ewe mated at field joining. *Applied Animal Behaviour Science*, 18(2): 173-184.
58. Ungerfeld R, González-Pensado SP. (2008). Social rank affects reproductive development in male lamb. *Animal Reproduction Science*, 109(1): 161-171.
59. Reyes Vázquez, Ao, Flores-Pérez, FI, Aguirre, V (2015) *Journal of Veterinary Behavior* 10 (1): 78-82.

60. 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. *Applied Animal Ethology*, 7(2): 157-167.
61. Zhang, L. X., Levine, S., Dent, G., Zhan, Y., Xing, G., Okimoto, D., Gordon, M.K., Post, R.M., Smith, M. A. (2002). Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Developmental Brain Research*, 133(1): 1-11.