

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**COMPORTAMIENTO SEXUAL DURANTE LA PRIMERA ESTACIÓN
REPRODUCTIVA DE CORDEROS CRIADOS ARTIFICIALMENTE O CON SUS
MADRES**

Por

María Carol ABELEND A MARTÍNEZ

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

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Danilo Fila

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Juan Pablo Damián

Tercer miembro:

Lic. Julia Giriboni

Cuarto miembro (Co - Tutor):

Dr. Rodolfo Ungerfeld

Fecha:

Autor:

Carol Abelenda

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis padres por apoyarme siempre en este largo camino y formarme como persona, a mi hermana por su compañía incondicional y amistad. A los demás de mi familia, abuela, tíos y primos por acompañarme siempre y ayudarme a crecer. A Andrés por estar siempre y hacer que sea una persona más feliz cada día y a Agustín por sus clases particulares. Del mismo modo agradecer a mis amigas, amigos y compañeros que me dejó la facultad, por hacer que de una u otra manera estos años fueran los mejores. Por otro lado agradecer a todos los docentes que ayudaron en mi formación tanto académica como personal durante toda la carrera. Con respecto al trabajo final, quiero agradecer Juan Pablo por su ayuda durante todo el trabajo, siempre con paciencia y dedicación, 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 (FCE2626-ANII) por su apoyo para que se pudiera realizar el proyecto. Por último agradecer a Laura, Florencia, Jesu, Natalia, Santiago, Cesar, Conrado, Guillermo y a los funcionarios de INIA La Estanzuela que de diferente manera ayudaron para que este trabajo se pudiera realizar.

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
PAGÍNA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE FIGURAS	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. Desarrollo sexual en el macho	8
1.2. Comportamiento sexual en el macho	9
1.3. Factores endocrinos vinculados al comportamiento sexual	11
1.4. Efecto de la raza y de la edad sobre el comportamiento sexual	12
1.5. Efecto de la estacionalidad sobre el comportamiento sexual	13
1.6. Factores genéticos vinculados al comportamiento sexual	14
1.7. Factores sociales vinculados al comportamiento sexual	14
1.7.1. Experiencias sociales tempranas	14
1.7.2. Jerarquía social vinculada al comportamiento sexual	15
1.7.3. Vínculo madre-cría relacionado al comportamiento sexual	16
2. HIPÓTESIS	19
3. OBJETIVO	20
4. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Manejo de los animales	21
4.2. Evaluación del comportamiento sexual	22
4.3. Muestras de sangre y determinación de testosterona	22
4.4. Análisis estadísticos	22
5. RESULTADOS	23
5.1. Peso	23
5.2. Concentración sérica de testosterona	23
5.3. Comportamiento sexual con hembras	25
5.3.1. Comportamientos de monta	26
DISCUSIÓN	28
CONCLUSIÓN	31
BIBLIOGRAFÍA	32

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Peso corporal de corderos criados artificialmente o con sus madres a lo largo del desarrollo.	23
Figura 2. Concentración sérica de testosterona desde la semana 0 a la semana 40 de corderos criados artificialmente o con sus madres.	24
Figura 3. Frecuencia de olfateos ano-genital, acercamientos laterales y flehmen desde la semana 13 a la 39 de corderos criados artificialmente o con sus madres.	25
Figura 4. Frecuencia de intentos de monta, monta, montas con eyaculación y montas totales de la semana 13 a la semana 39 de corderos criados artificialmente o con sus madres.	27

RESUMEN

Dentro de los factores sociales, la presencia y el vínculo entre la madre y la cría es de fundamental importancia para el desarrollo posterior de la cría. En roedores se ha observado que la intensidad del vínculo con la madre durante la lactancia afecta el desarrollo reproductivo posterior de la descendencia masculina. En los sistemas productivos se realiza un destete temprano de corderos (separación de la madre de su cría) con el objetivo de lograr una temprana recuperación de la madre. Sin embargo, no se conoce el efecto que tiene el destete temprano sobre el desarrollo sexual de los corderos machos. El objetivo de la tesis fue determinar si el comportamiento sexual frente a hembras en celo y la concentración sérica de testosterona durante la primera estación reproductiva difiere entre corderos criados con o sin sus madres (criados artificialmente) durante la lactancia. Se utilizaron 27 corderos raza Ideal, que fueron adjudicados a dos grupos experimentales: 1) al día de nacidos se los separó de sus madres y crió artificialmente con leche de oveja (n=14; grupo CA), 2) criados junto a sus madres (n=13; grupo CM). El desleche de los CA, y el destete y desleche de los CM se realizó cuando tenían en promedio 75 días de edad. Las madres de los corderos CM se trasladaron a otro potrero donde no tenían contacto visual ni acústico con los corderos en experimentación. Ambos grupos se mantuvieron en potreros diferentes durante todo el trabajo. Los animales se pesaron y se les extrajo sangre semanalmente para medir las concentraciones séricas de testosterona. Se evaluó el comportamiento sexual cada 15-20 días entre las 13 y 39 semanas de edad. Para ello se colocó a cada cordero con una oveja con celo inducido hormonalmente, en un corral de 5 x 5m durante 20 min. Se registró la cantidad de olfateos ano-genitales (OAG), acercamientos laterales (AL), flehmen (F), intentos de monta (IM), montas (M), montas con eyaculación (ME) y montas totales (MT: montas + montas con eyaculación). El peso corporal se incrementó con la edad ($p < 0,0001$), pero no se encontró diferencia entre grupos en ninguna semana ($p = 0,4$). Los CM tuvieron mayor concentración sérica de testosterona en la semana 18 (CM: $17,77 \pm 1,75$ vs CA: $10,09 \pm 1,64$ nmol/L, respectivamente; $p = 0,003$) y en la semana 21 (CM: $13,72 \pm 1,67$ vs CA: $8,36 \pm 1,79$ nmol/L, respectivamente; $p = 0,004$). Los corderos CM presentaron mayor frecuencia de AL ($8,5 \pm 1,2$ vs $4,8 \pm 1,1$ $p = 0,029$) e IM ($0,9 \pm 0,2$ vs $0,2 \pm 0,2$ $p = 0,013$) que los CA. Hubo interacción entre grupo y tiempo en la frecuencia de M ($p = 0,026$) y MT ($p = 0,024$): los corderos CM presentaron mayor frecuencia de M en la semana 32 ($4,6 \pm 1,4$ vs $0,3 \pm 1,3$, $p = 0,028$) y 39 ($10,8 \pm 1,4$ vs $3,5 \pm 1,3$, $p = 0,0003$) que los corderos CA, y mayor frecuencia de MT en la semana 32 ($4,9 \pm 1,5$ vs $0,4 \pm 1,4$, $p = 0,027$) y 39 ($12,0 \pm 1,5$ vs $4,4 \pm 1,4$, $p = 0,0002$). Todos los comportamientos se incrementaron con la edad ($p < 0,05$). En conclusión, la presencia y el vínculo con la madre afectó el comportamiento sexual durante la primera estación reproductiva en corderos machos. Los corderos criados con la madre manifestaron mayor frecuencia de comportamientos sexuales y más tempranamente que aquellos criados artificialmente.

SUMMARY

Among the social factors, the presence and bond between the mother and its offspring is of critical importance for the further development of the lambs. In rodents was observed that the intensity of the link between the mother and its offspring during lactation stage affects the reproductive development of male offspring. In production systems early weaning of lambs (separating the mother of his breeding) is performed in order to achieve an early recovery of the mother. However, the effect of weaning at an early age on male's lamb sexual development is unknown. The aim of this thesis was to determine if the sexual behavior towards ewes in estrus and serum testosterone concentration during the first breeding season differs between lambs reared with or without (artificially reared) their mothers during lactation. We used 27 (Polwarth) Ideal lambs allocated to two experimental groups, 1) (n=14 AR group) were separated from their mothers in their first day of age and artificially reared with sheep's milk, 2) (n=13 DR group) raised by their mothers. AR lambs stopped breastfeeding and lambs weaning and stopped breastfeeding were performed when they were an average age of 75 days. Mothers of DR lambs were moved to another paddock, where there was no visual or acoustic contact with lambs. Both groups were kept in different paddocks throughout this experiment. Animals were weighed and blood samples were taken weekly for measuring the serum testosterone concentrations. We evaluated lambs sexual behavior every 2 weeks between weeks 13 and 39 of age. In order to do that each lamb was placed with a a sheep hormonally induced to estrus in a pen of (5 x 5m) for 20 minutes. The frequency of ano-genital sniffing (OAG), lateral approaches (AL), flehmen (F), mounting attempts (IM), mounts (M), mounts with ejaculation (ME) and total mount (MT: mounts + mounts with ejaculation) were recorded. Body weight increased with age ($p < 0.0001$), but no difference between groups was found in any week ($p = 0.4$). DR group had higher serum testosterone concentration at week 18 (DR: $17,77 \pm 1,75$ vs AR: $10,09 \pm 1,64$ nmol/L, respectively, $p=0,003$) and in week 21 (DR : $13,72 \pm 1,67$ vs AR: $8,36 \pm 1,79$ nmol/L, respectively, $p = 0.004$). DR lambs presented a higher frequency of AL (8.5 ± 1.2 vs 4.8 ± 1.1 , $p=0.029$) and MI (0.9 ± 0.2 vs 0.2 ± 0.2 , $p = 0.013$) than AR. There was interaction between group and time in M frequency ($p = 0.026$) and MT ($p = 0.024$). DR lambs presented higher frequency of M at week 32 (4.6 ± 1.4 vs 0.3 ± 1.3 $p = 0.028$) and 39 (10.8 ± 1.4 vs 3.5 ± 1.3 $p = 0.0003$), and higher frequency of MT at week 32 (4.9 ± 1.5 vs 0.4 ± 1.4 $p = 0.027$) and 39 (12.0 ± 1.5 vs 4.4 ± 1.4 $p = 0.0002$). All behaviors increased with age ($p < 0.05$). In conclusion, the presence and the bond with the mother during lactation stage affected the sexual behavior during the first reproductive season in male lambs. Lambs reared with mother deployed more sexual behaviors towards ewes in estrus and earlier than those reared artificially.

1. INTRODUCCIÓN

El comportamiento de los animales tiene una función importante en la reproducción, influyendo tanto en el éxito del apareamiento como en la supervivencia de las crías (Hafez y Hafez, 2002). Los patrones comportamentales son afectados tanto por la genética y el ambiente, como por la experiencia previa que tengan los animales (Fabre-Nys, 2000). A su vez es necesario considerar que en animales de producción el comportamiento está fuertemente influenciado por la selección humana, como consecuencia de seleccionar los animales de acuerdo a características productivas (Price, 2002). Dentro de éstas, las características reproductivas son de gran importancia en el momento de seleccionar machos para reproductores, evaluando principalmente calidad seminal, características testiculares y comportamiento reproductivo (libido y habilidad de monta) (Kilgour, 1993). También es importante tener en cuenta los diferentes factores que pueden estar influenciando éstas características. Principalmente, el comportamiento reproductivo puede ser influenciado por factores como la raza, la edad (Snowder et al., 2002), la estacionalidad (Rosa et al., 2000), así como factores hormonales y sociales (Dickson y Sanford, 2005; Stellflug y Lewis, 2007) entre otros.

La experiencia temprana en el entorno social es de gran importancia en el desarrollo del comportamiento sexual. Condiciones sociales distintas de aquellas con las que una especie ha evolucionado, como el aislamiento, la crianza sin contacto con congéneres o de cría en grupos del mismo sexo pueden alterar el comportamiento posterior (Scott et al., 1987). La presencia y el vínculo entre la madre y la cría es fundamental ya que la madre es la primera congénere que los jóvenes encuentran, y las relaciones sociales posteriores están influenciadas por estas primeras interacciones (Levy y Keller, 2008). Las preferencias sensoriales se desarrollan a través de estas interacciones y van a influir en la selección de alimentos, la elección de pareja (Fillion y Blass, 1986) y el comportamiento materno en la vida adulta (Shah et al., 2002). En los sistemas productivos es común que se implementen medidas de manejo como el destete temprano para aumentar la eficiencia de producción. El destete artificial se realiza mucho más temprano que el destete natural y en general en forma abrupta, implicando una ruptura temprana del vínculo madre-cría, lo que genera un estrés para ambos. Existe poca información de cómo el destete artificial afecta el desarrollo y comportamiento sexual posterior en la descendencia masculina.

1.1. Desarrollo sexual en el macho

El desarrollo sexual se ve expresado en el crecimiento de los órganos reproductivos y la realización de la espermatogénesis en forma completa, estos cambios están estrechamente relacionados con el crecimiento del cuerpo, la edad y la estación del año (Dyrmundsson, 1973). Dicho desarrollo constituye un proceso gradual y puede ser influenciado en su manifestación por el nivel de nutrición, la raza y el cruzamiento (Bellows et al., 1964), además de verse afectado por diversos factores ambientales como son: la época de nacimiento, alimentación y temperatura (Dyrmundsson, 1981; Foster, 1981). La maduración sexual y el posterior desarrollo de la competencia reproductiva dependen de la coordinada y precisa función del eje hipotálamo-hipofisario, de la secreción de las células adenohipofisarias, sintetizando

hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) (Pelletier et al., 1981), además de la capacidad de respuesta de las gónadas, en las que se estimula la gametogénesis y la liberación de esteroides gonadales (Ungerfeld, 2002).

En el macho la pubertad ha sido definida de diversas maneras. Bellows et al. (1964) la caracterizaron por el desarrollo de caracteres sexuales secundarios, capacidad de copular, y presencia de espermatozoides viables en el eyaculado. Skinner y Rowson (1968) consideran que la pubertad en los machos se alcanza cuando la secreción de andrógenos en respuesta a las gonadotrofinas hipofisarias acelera el desarrollo de sus órganos diana y los caracteres sexuales secundarios se desarrollan. Más recientemente Hafez y Hafez (2002) la definieron como la capacidad del individuo de emitir gametos y de manifestar secuencias completas de comportamiento sexual. La edad de la pubertad en corderos varía entre autores, en gran parte por las diferentes metodologías y criterios aplicados en los diferentes trabajos para determinarla. Por ejemplo, se la define por la primera colección de semen (Louw et al., 1964), por la edad en que ocurre el desprendimiento completo de adherencias prepuciales (Dun, 1995), por la presencia de espermatozoides con movimiento progresivo en el eyaculado (Valencia et al., 1977), y la edad con un eyaculado con concentración de 50×10^6 espermatozoides y 10 % de motiles (Wheaton et al., 2003).

En los corderos la pubertad está asociada con un marcado incremento en la función endocrina, la espermatogénesis y posteriormente la manifestación del comportamiento sexual. Sin embargo, la madurez sexual, que es la expresión de la plena capacidad reproductiva se alcanza a una mayor edad, por lo que la pubertad en el macho joven no es sinónimo de madurez sexual (Emmens, 1969). Ciertas formas de comportamiento sexual pueden observarse en corderos a una edad temprana. Eraser (1968) señaló la ocurrencia común de montaje prepuberal, tanto hetero como homosexual en corderos, y de señales claras de la libido que se puede observar algunas veces antes de la pubertad. Estas conductas carecen de la motivación sexual pero pueden servir para ir preparando a los animales para su vida adulta (Fagen, 1981).

El desarrollo sexual y el comienzo de la pubertad parecen estar controlados por mecanismos que involucran al cerebro y la glándula pituitaria anterior, regulando tanto la síntesis como la liberación de hormonas gonadotrópicas. La finalización de la espermatogénesis, marcada por la liberación de los espermatozoides, es precedida por un aumento constante en el nivel de secreción de andrógenos y un mayor desarrollo de las glándulas accesorias. Además, cierto desarrollo anatómico, como el descenso de los testículos y la ruptura de las adherencias prepuciales, que también están bajo control endocrino, normalmente se completan antes de que se alcance la pubertad (Dyrmundsson, 1973).

1.2. Comportamiento sexual en machos

En sistemas de cría donde se utiliza la monta natural, una serie de eventos y estímulos sexuales deben ocurrir tanto en machos como en hembras para que se alcance la fertilización (Pacheco y Quirino, 2010). Es necesario comprender que el comportamiento tiene dos componentes: el motivacional y el de ejecución. El primero se conoce como libido, mientras que el segundo se basa tanto en la libido como en

los patrones motores que le permiten realizar este comportamiento (Trujillo, 2014). Las aéreas cerebrales que parecen estar involucradas en el comportamiento sexual son los núcleos amigdalinos mediales y corticales, el área preóptica media y el núcleo ventromedial del hipotálamo (Olazábal, 2002). En los machos la actividad sexual se encuentra bajo el control de hormonas androgénicas que actúan principalmente en el área preóptica del hipotálamo, como lo demuestran trabajos en los que la colocación de implantes de testosterona en ésta área estimula el comportamiento sexual en machos (Sarlós et al., 2013). Conjuntamente con la información hormonal el área preóptica recibe información sensorial del órgano vómero-nasal (OVN) y genitales a través de la amígdala, induciendo reflejos genitales y patrones copulatorios (Carlson, 2007, citado por Trujillo, 2014). Estos patrones motores de la actividad copulatoria se programan conforme a circuitos neuronales preexistentes específicos de cada especie (Hafez y Hafez, 2002). Estas actividades motoras son adoptadas en respuesta a ciertas sustancias químicas. Entre estas sustancias se encuentran las feromonas, que permiten la comunicación entre animales por un lenguaje que no incluye sonidos o señales visuales, sino por moléculas que ellos mismos liberan al ambiente a través de la orina, heces o por vía cutánea (Rekwot et al., 2000), y aún en pequeñas cantidades, modifican el comportamiento de otros individuos de la misma especie (Seeley et al., 2003). En ovinos las feromonas son liberadas junto con la suarda de la lana y en la orina (Signoret et al., 1982). Si bien no se ha aislado químicamente todas las sustancias se sabe que su secreción esta bajo influencias de andrógenos y estrógenos (Knight y Birch, 1983). Dichas feromonas son detectadas por receptores celulares del OVN, que en el ovino, es un conducto cartilaginoso situado bilateralmente en la parte ventral de la cavidad nasal, que se comunica directamente con la cavidad nasal, y oral a través del conducto incisivo (Ungerfeld et al., 2006). Éste, percibe las feromonas y las neuronas envían sus axones a través del bulbo olfatorio, de donde los estímulos llegan a núcleos de la amígdala, diferentes de aquellos que reciben las señales del sistema olfatorio principal (Winans y Scalia, 1970). Las neuronas del núcleo vómero-nasal de la amígdala envían fibras directamente a centros del hipotálamo involucrados en el comportamiento reproductivo. De ello surge que la vía olfativa accesoria saltea los centros nerviosos superiores, determinando respuestas endocrinas innatas y estereotipadas, fuera del control de la conciencia (Dulac, 1997).

En un estudio realizado por Ungerfeld et al. (2006) observaron que carneros con la comunicación naso OVN bloqueada, fueron menos estimulados por hembras en celo, montando y eyaculando menos veces que los machos que no tenían bloqueado dicho órgano. Con este resultado los autores concluyeron que el estímulo de feromonas de las hembras en celo determinan un aumento en el desempeño sexual de carneros. Las feromonas no poseen la misma importancia en todas las especies. En los insectos, estos mensajeros químicos se manifiestan como la principal forma de comunicación, probablemente debido a las restricciones impuestas por su pequeño tamaño a la producción y percepción de señales visuales y acústicas (Symonds y Elgar, 2008). Un estudio realizado en canguros demostró que las feromonas son importantes para el reconocimiento del sexo. Después de anular el gen receptor de feromonas, canguros machos pasaron a no presentar agresividad frente a otros machos, porque no los reconocían como tal, intentando aparearse tanto con machos como con hembras (Córdova et al., 2002).

La primera fase de expresión del comportamiento sexual implica que el macho inicie una serie de comportamientos, que en principio sirven para la identificación del estado fisiológico en que se encuentra la hembra (Gordon, 1999). En esta primera fase el macho dedica un tiempo considerable olfateando los genitales y orina de la oveja, a lo que sigue una respuesta de flehmen, donde levanta el labio superior y huele el aire exponiendo a un mayor contacto el OVN, para facilitar la introducción de sustancias del medio exterior (Ladewig et al., 1980; Hafez y Hafez, 2002). Esto tiene dos efectos: determinar cuáles hembras están en celo y cuáles no y aumentar su libido al ser estimulado por feromonas presentes de hembras en celo (Ungerfeld, 2002). Una vez identificado el estado fisiológico de la hembra, las acciones de cortejo subsiguientes están destinadas a identificar la receptividad a la monta, lo que puede implicar una agresiva interacción con la hembra que incluye tocarla con la pata, lamer y olfatear, particularmente en la vulva (Evans y Maxwell, 1987). En ovinos es común que el macho gire y baje el nivel de su cabeza suavemente mientras su hombro entra en contacto con el flanco de la oveja, eleve una extremidad delantera al tiempo que emite vocalizaciones de tonos bajos (Banks, 1964). El tipo de respuesta varía, según la duración, complejidad e intensidad del estímulo sexual (Walkden-Brown et al., 1999).

La cópula se va a desencadenar después que se identificó una pareja sexualmente receptiva. La misma involucra una serie de eventos endocrinos y nerviosos, que en el macho determinan la erección y protrusión peneana, la monta, intromisión y eyaculación (Ungerfeld, 2002). Cuando la hembra permanece quieta el carnero monta rápidamente, aunque varias montas caracterizadas por movimientos pélvicos sin intromisión pueden interrumpir la secuencia de las unidades de conducta (Trujillo, 2014). Pero cuando la punta del glande entra en contacto con la mucosa vaginal, en respuesta se produce una contracción pélvica vigorosa acompañada de un movimiento de propulsión de las patas traseras ocurriendo inmediatamente la eyaculación, y un movimiento de la cabeza hacia atrás de manera sincrónica (Evans y Maxwell, 1987). Luego el macho desmonta y permanece junto a la hembra durante un período de falta de interés sexual conocido como “refractario” o “de latencia”, y luego reinicia su comportamiento de cortejo con la misma hembra, o busca una nueva hembra con la que interactuar sexualmente (Trujillo, 2014). En los rumiantes el semen es depositado en el fondo vaginal y es relativamente bajo en volumen y alto en concentración (Evans y Maxwell, 1987).

En resumen, el comportamiento de cópula es el resultado de varias unidades conductuales, que abarcan la identificación de la hembra, el cortejo y la eyaculación. Para que el acto sexual se desenvuelva normalmente existe una dependencia de interacciones entre factores endocrinos y eventos sociales (Chemineau et al., 1991). Es importante conocer los factores que pueden afectar el comportamiento sexual, como son los factores genéticos, nutricionales y hormonales, el ambiente, la edad, la experiencia previa y orden de dominancia social al que pertenecen (Barbosa et al., 1991). Y saber cómo estos factores afectan el comportamiento sexual, por su aplicabilidad en el momento realizar reproducción controlada en ovinos.

1.3. Factores endocrinos vinculados al comportamiento sexual

Las hormonas sexuales masculinas son responsables de la manifestación de las características sexuales secundarias (Todoni et al., 2007), del comportamiento

sexual (Fourie et al., 2005) y de las características de la canal (Wellington et al., 2003). La acción de la testosterona es esencial para la diferenciación sexual, anatómica y función reproductiva del macho. Las células de Leydig son un sitio esencial de biosíntesis de testosterona durante la diferenciación del macho (Haqq y Donahoe, 1998), y está demostrado que los testículos fetales en el macho ovino comienzan a producir testosterona a partir del día 30 de preñez (Roselli et al., 2003). Estudios basados en la castración de machos prepúberes comprobaron la posterior falta de desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, acumulación de grasa corporal y ausencia de la libido (Emmens, 1969; Brown et al., 1994). Banks (1964) mostró que cuando 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 et al. (2002) comprobaron por medio de la inmunización contra la GnRH (inmunocastración) la disminución temporal de los niveles plasmáticos de testosterona, además de una disminución en la expresión del comportamiento de monta y en el número de eyaculaciones. Por otra parte, fue demostrado que la concentración de LH y de testosterona presenta un aumento en su concentración cuando los machos son colocados junto a hembras en celo (González et al., 1991), lo que fue atribuido a que el estímulo sexual por parte de la hembra en el macho, da como resultado un aumento de la producción de testosterona y la cópula le genera un aumento de LH hipofisaria (Davidson y Bloch, 1969).

Otra de las hormonas importantes en el comportamiento sexual del carnero, es la melatonina, factor clave entre el fotoperiodo y la reproducción, ya que la producción de esta hormona aumenta durante las noches largas, favoreciendo 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 al momento de la cópula (Sharma et al., 1972; Knight, 1983).

1.4. Efecto de la raza y de la edad sobre el comportamiento sexual

Tanto la raza como la edad son factores que afectan la expresión del comportamiento sexual. En general las características reproductivas mejoran a medida que la edad aumenta (Gordon, 1999). Según Gill (2004) animales adultos normalmente presentan un mejor desempeño reproductivo que animales jóvenes o seniles. Otros autores como Stellflug y Lewis (2007) consideran que más importante que la edad es la experiencia previa del macho con hembras en celo, porque esto estimula el interés por la hembra. Simtitzis et al. (2006) mostraron que tanto carneros jóvenes como adultos exhibieron más intensamente comportamiento de identificación y cortejo frente a hembras jóvenes, lo que puede ser explicado por el hecho de que éstas expresen con menor intensidad los signos de estro. Con respecto a las razas, las diferencias más marcadas entre éstas están dadas por una mayor o menor actividad sexual (Moore, 1981; Walker et al., 1985). Belibasaki y Kouimtzis (2000) estudiaron el comportamiento de carneros jóvenes de cuatro razas diferentes, dos consideradas más prolíficas (Friesland y Chios) y dos menos prolíficas (Karagouniki y Serres). Los resultados demostraron que los machos de las razas más prolíficas fueron los que exhibieron mayor interés en las hembras y llegaron a la pubertad más temprano. Un resultado semejante fue descrito por Avdi

et al. (2004), en dicho trabajo la raza y edad de los machos tuvo un papel fundamental en la exhibición del interés sexual. Carneros Chios mostraron un patrón estacional de montaje, mientras que los carneros Serres no mostraron ningún patrón, pero variaba ampliamente el número de montajes de mes a mes. Como fueron criados con iguales condiciones de manejo, las diferencias se atribuyeron a la genética que determina la estacionalidad de las razas.

1.5. Efecto de la estacionalidad sobre el comportamiento sexual

La estacionalidad reproductiva, como parte del proceso de selección natural, es un mecanismo de adaptación desarrollado por algunos mamíferos como estrategia para minimizar el impacto negativo del ambiente en la supervivencia de las crías (Karsch et al., 1984; Malpaux et al., 1996). La duración de las horas luz juega un rol preponderante en las variaciones de la actividad sexual (Yeates, 1949). En ovinos, la reproducción sigue un patrón estacional, alternando periodos de anestro y de actividad sexual, regidos por el fotoperiodo, donde días cortos estimulan la actividad sexual y días largos inducen anestro (Henderson, 1991). La estacionalidad reproductiva es una limitante en la productividad de los pequeños rumiantes (Zarazaga et al., 2003), principalmente en regiones de clima templado, donde hay una clara delimitación de las estaciones del año y consecuentemente alteraciones más pronunciadas en el número de horas luz por día a lo largo del año (Pacheco y Quirino, 2003).

La sensibilidad del carnero a la variación de las horas luz no es tan marcada como en las ovejas. Sin embargo, se ha comprobado que durante los días largos de primavera y principios del verano la producción de semen es inferior, no solo en cantidad sino también en calidad, debido a la presencia de espermatozoides anormales incapaces de fecundar (Fowler, 1962; Schanbacher, 1979). Thiéry et al. (2002) en su revisión observaron que durante la primavera la producción de espermatozoides fue cuatro veces inferior a la producción durante el otoño, además de presentarse cambios en los perfiles hormonales a lo largo del año, en particular de testosterona, lo que genera cambios en la libido (Schanbacher y Lunstra, 1976) y en la agresividad entre machos (Lincoln y Davidson, 1977). La disminución de las horas luz estimula la secreción de LH y FSH por la hipófisis, constatándose un aumento de la actividad testicular y producción de testosterona. En cambio, cuando la duración de los días aumenta se constata una disminución de la secreción de gonadotropinas y testosterona (Regisford y Katz, 1993). En clima templado, Rosa et al. (2000) verificaron que los carneros sufrieron fluctuaciones estacionales en la actividad endocrina, en el comportamiento sexual y en la espermatogénesis, así como en la masa y volumen testicular. Cuando se manejan cambios controlados en las horas luz, se observa gran variación en el comportamiento sexual y en la espermatogénesis entre razas, habiendo razas menos susceptibles al fotoperíodo que otras. Por ejemplo, El-Alamy et al. (2001) obtuvieron cerca del doble de eyaculados en carneros Finn que en Dorset, además de que la diferencia en libido estuvo asociada con mayores concentraciones de espermatozoides en los carneros Finn, y aparentemente los cambios en el fotoperiodo no afectaron la concentración de semen en dichos carneros.

1.6. Factores genéticos vinculados al comportamiento sexual

La identificación en forma precoz de características que reflejen un alto desempeño sexual en los machos es de gran importancia para el progreso genético. De acuerdo con Chenoweth (1981), el comportamiento sexual está fuertemente influenciado por factores genéticos, mostrando heredabilidad de moderada a alta. En ovinos, Snowden et al. (2002) estimaron valores de 0,22 y 0,72, para la heredabilidad y repetibilidad de desempeño sexual respectivamente. En un estudio realizado por Bench et al. (2001) se observó que hijos e hijas de carneros que presentaron un mayor desempeño sexual también exhibieron una mayor performance sexual. Además observaron en los hijos de machos seleccionados, una mejoría cualitativa y cuantitativa en los eyaculados, y las hembras manifestaron el primer celo más temprano. En base a esta información se sugiere que con la selección de machos con alta performance sexual hay posibilidad de disminuir el intervalo generacional y aumentar el número de descendientes. Más recientemente Kridli et al. (2007) demostraron la variación genética entre razas, al realizar una serie de cruza y probar que los corderos Romanov x Awassi poseen una mayor frecuencia de monta que los Awassi y F1 Charollais x Awassi, mientras que los Awassi tuvieron mayor capacidad de monta con hembras de cola-gruesa que los Charollais x Awassi y Romanov x Awassi. Stellflug et al. (2006) de acuerdo con los autores mencionados anteriormente relatan que machos de alto desempeño sexual dejan mayor número de descendientes. Sin embargo, en su trabajo atribuyeron el mayor número de montas y eyaculaciones de los carneros de alta performance a su mayor motivación sexual (libido), más que a los efectos de dominancia o a patrones motores asociados a la monta y cópula, sugiriendo que la selección debe ser más enfocada en la motivación sexual.

1.7. Factores sociales vinculados al comportamiento sexual

1.7.1. Experiencias sociales tempranas

Dentro de los factores sociales las experiencias tempranas pueden tener importantes efectos en los comportamientos sociales y sexuales, como también en el crecimiento y susceptibilidad a enfermedades (Scott et al., 1987). La experiencia sexual previa es una de las más discutidas. Según Shackleton (1991), los carneros jóvenes, normalmente inexpertos, exhiben menor interés sexual cuando son colocados por primera vez en contacto con hembras, y este desempeño puede mejorar si ocurre una exposición previa a hembras cuando los carneros están próximos a la pubertad (Price et al., 1994). Illius et al., (1976a) determinó 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. Años después Price et al. (1991, 1994), demostraron que corderos que tuvieron contacto con ovejas en celo entre 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 de corderos que entraban en la pubertad a ovejas en celo 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 et al., 2006). Sin embargo, Rosa et al. (2002) observaron en carneros adultos que el comportamiento sexual 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 permanecieron mucho más tiempo en actividad sexual que los que presentaron bajas concentraciones.

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 facilitará que la preferencia sexual de los carneros sea hacia hembras y no hacia machos, además de acelerar la aparición de la conducta sexual (Katz et al., 1988). Esta práctica de separación de corderos por sexo puede inducir un comportamiento homosexual entre los machos, interfiriendo en la libido y como consecuencia en la eficiencia reproductiva del rebaño (Gill, 2004). En un estudio realizado por Zenchak y Anderson (1980) sobre el desarrollo de la conducta sexual en carneros, se demostró la relación directa que existía entre la falta de interés en las hembras por parte de los machos y los niveles relativamente altos de montas dirigido hacia los compañeros machos de corral durante la cría. Un resultado similar con machos cabríos fue reportado por Price y Smith (1984). En este estudio machos que montaron constantemente ciertos compañeros de corral, estaban inactivos sexualmente cuando fueron expuestos a hembras. Sugiriendo que la formación de lazos sociales específicos entre los machos al principio de la vida puede, al menos temporalmente, impedir el desarrollo del interés sexual hacia las hembras.

1.7.2. Jerarquía social vinculada al comportamiento sexual

El hábito de vida gregaria de los rumiantes determina la ocurrencia de interacciones sociales, provocando situaciones que llevan a la competición por recursos (por ejemplo las hembras). En todo grupo social existe una posición o rango jerárquico que ocupan los individuos que lo conforman. La jerarquía representa un orden de dominancia dentro de una estructura social (Galindo y Orihuela, 2004), basado en sus mutuas relaciones de dominancia-subordinación (Hurnik et al., 1995), lo que puede llevar a interacciones agresivas entre los animales (Costa y Silva, 2007). En ovinos la dominancia puede establecerse en grupos desde que los animales son jóvenes, permaneciendo estables mientras no haya cambios en los miembros que lo integran, aunque éstas puede cambiar conforme los carneros envejecen (Pelletier, 2005), pudiendo también establecerse casi de inmediato en animales que interactúan por primera vez. En corderos, Ungerfeld y González-Pensado (2008) evaluaron el desempeño reproductivo en relación a su jerarquía social. Dichos autores observaron que los corderos de alto rango social fueron más precoces que los de bajo rango, lo que se vio reflejado en que los corderos de alto rango aumentaron su peso corporal y circunferencia escrotal antes que los de bajo rango. Además, la producción de semen ocurrió antes y el número

de montas registrado fue mayor por parte de los corderos de alto rango (Ungerfeld y Lacuesta, 2010).

Durante la vida adulta, cuando se utiliza más de un carnero para dar servicio a una majada, existe un claro efecto de dominancia. Incluso la simple presencia de un carnero de alto rango jerárquico puede inhibir el comportamiento sexual de los de bajo rango (Tilbrook et al., 1987), representando una forma de “castración psicológica” (Price, 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 et al., 2003). Fowler y Jenkins (1976) demostraron que cuando el carnero de mayor rango jerárquico es infértil la tasa de preñez de la majada disminuye, aunque los carneros de menor rango sean fértiles, dado que estos últimos acceden a una menor cantidad de hembras en celo.

1.7.3. Vínculo madre-cría relacionado al comportamiento sexual

El vínculo madre-cría es el factor social de mayor relevancia para la cría, dado que inmediatamente al nacimiento el cordero desencadena un fuerte vínculo con la madre (Poindron y Le Neindre, 1980), de larga duración y que sobrevive a separaciones temporales (Hinde, 1974; Newberry y Swanson, 2001). 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 cual la oveja persiste en lamer esa zona (Sharafeldin y Kandeel, 1971). La madre provee comida, calor, refugio, protección frente a los depredadores y aumento de la supervivencia hasta el destete, siendo la primera congénere que los jóvenes encuentran y por tanto, las relaciones sociales posteriores están influidas por estas primeras interacciones (Lévy y Keller, 2008). Más aún, fue observado que la atención materna durante la vida temprana regula el desarrollo de sistemas fisiológicos, sociales, emocionales, cognitivos y comportamentales en el desarrollo de la descendencia (Levine et al., 1967; Hofer, 1994; Hall, 1998). Las preferencias sensoriales se desarrollan a través de las interacciones con la madre y van a influir en la selección de alimentos cuando adultos, la elección de pareja (Fillion y Blass, 1986) y el comportamiento materno (Shah et al., 2002).

En condiciones naturales la ruptura del vínculo madre cría es un proceso que implica la reducción gradual de la ingesta de leche, acompañado de aumento creciente de independencia social de la madre y el aumento de la ingesta de alimentos sólidos (Weary et al., 2008). Se produce a edades variables según la especie, pero sin embargo, dicho vínculo puede persistir más allá del destete de la cría (Newberry y Swanson, 2001). En los sistemas productivos generalmente se realiza un destete temprano de corderos con el objetivo de lograr una temprana recuperación reproductiva de la madre, transformándose en un evento muy estresante para ambos, que generalmente suma factores de estrés adicionales, tales como cambios en los ambientes sociales y físicos (Weary et al., 2008). En los días posteriores al destete se eleva el ritmo cardíaco, así como la temperatura a nivel central y los niveles de corticoides, se manifiestan intentos de fuga y vocalizaciones

relacionados con la tentativa de restablecer el contacto con la madre por parte de ambos (Veissier y LeNeindre, 1992). También se presentan alteraciones comportamentales como la disminución en la alimentación y supresión del juego (Cirulli et al., 1996; Koolhaas et al., 1997; Donaldson et al., 2002). Ha sido demostrado que el uso de métodos abruptos de destete pueden causar menor tasa de crecimiento, pérdida de peso y disminución en la condición corporal (Waran et al., 2008; Weary et al., 2008). Estudios realizados en lechones destetados precozmente demostraron que éstos tuvieron una menor tasa de crecimiento (Leibbrandt et al., 1975) y mayor agresividad que lechones destetados tardíamente (McGlone y Curtis, 1985). En bovinos de carne Arias et al. (1998) concluyeron que el destete precoz disminuye la ganancia de peso en los terneros, logrando terneros más livianos al concluir la cría. Existe poca información de cómo esta medida común de manejo (destete artificial) que implica una ruptura temprana del vínculo madre-cría, afecta el desarrollo y comportamiento sexual posterior en los machos.

La mayoría de los trabajos que evaluaron el efecto del vínculo madre-cría sobre el comportamiento sexual en el desarrollo 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-Dimethyl-2,6-octadienal I). A los cien días de destetados se los sometió a pruebas de apareamiento con hembras sexualmente receptivas, una tratada con citral antes de la prueba y otra control sin tratamiento, y se observó que los machos eyaculaban rápidamente cuando se los juntaba con la hembra tratada, pero tardaban en alcanzar la eyaculación si se juntaban con la hembra control. Estos resultados demuestran una influencia de factores maternos en las primeras etapas de vida como determinante de la conducta sexual de los adultos. En otro trabajo Birke y Sadler (1987) evaluaron el efecto que producía el lamido de la madre en la región ano genital y su repercusión en la vida adulta. Observaron que aquellas crías que no fueron lamidas por sus madres en la región ano genital, presentaron intervalos mayores entre montas cuando llegaron a la etapa adulta que aquellos que sí lo fueron. El mismo resultado había sido registrado años antes por Moore (1984), quien evaluó la tasa de copulación, y observó que la falta de lamido se reflejaba en una disminución de la conducta sexual, particularmente en una menor cantidad de penetraciones por eyaculado. Concluyó en este trabajo, que la estimulación del lamido materno durante la cría contribuye al desarrollo del comportamiento sexual en machos adultos.

En la especie ovina Kendrick et al. (1998) investigaron las influencias maternas en el desarrollo del comportamiento utilizando la adopción cruzada entre ovejas y cabras. Criaron corderos con cabras pero permitiendo el contacto social con ovejas. Durante la etapa de cría, su comportamiento de juego fue más parecido al de las cabras; sin embargo parámetros específicos de agresión, escalada, vocalización y alimentación no fueron afectados. En la etapa adulta, los corderos machos criados por cabras prefirieron socializar y montar a cabras más que a ovejas, inclusive después de haber convivido 3 años con éstas. Los autores expresaron que el vínculo emocional entre la madre y su descendencia masculina, más que otros factores sociales o genéticos pueden determinar alteraciones irreversibles de la especie ovina, tanto en el ámbito social como sexual, mientras que en hembras esta

influencia es más leve y reversible. En otro estudio realizado por Al-Nakib et al. (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 en comparación con los animales criados artificialmente (AR). Se encontró una estrecha relación entre las características sexuales y el peso corporal (por ejemplo, el diámetro testicular, los rasgos del semen, la libido, los niveles de testosterona y la edad en el inicio de la madurez sexual). La presencia o no de hembras de la misma edad durante los primeros 2 meses de vida no tuvo ningún efecto sobre las características medidas. Sin embargo, tuvo efecto luego de los 2 meses de edad produciendo un aumento en el peso corporal, el diámetro testicular y la concentración sérica de testosterona a diferencia de los corderos criados en grupos sin hembras. 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. Se observó que el rendimiento de apareamiento mejoró de manera constante con el avance de la edad y aumento del peso corporal para ambos grupos. Las diferencias encontradas en este trabajo a favor de los corderos NR podrían estar explicadas por el peso y no tanto por el ambiente social.

En esta tesis se manejaron dos grupos de corderos, uno criado artificialmente y otro criado con su madre, con el objetivo de poder generar dos grupos diferentes en relación a la presencia y vínculo con su madre. Ambos se sometieron a pruebas de comportamiento sexual frente a hembras en celo y se determinó la concentración sérica de testosterona para observar si la presencia de la madre durante la lactancia afecta los mencionados parámetros.

2. HIPÓTESIS

Corderos criados por sus madres durante la lactancia manifiestan mayor frecuencia de comportamientos sexuales frente a hembras en celo y una mayor concentración de testosterona sérica durante la primera estación reproductiva que corderos criados artificialmente.

3. OBJETIVO

Determinar si el comportamiento sexual frente a hembras en celo y la concentración sérica de testosterona durante la primera estación reproductiva difiere entre corderos criados con o sin sus madres (criados artificialmente) durante la lactancia.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Manejo de los animales

El trabajo de campo se realizó en la unidad de Ovinos del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental “La Estanzuela” (Ruta 50 km 11, Colonia, Uruguay). Se trabajó con 27 corderos machos (raza Ideal), los cuales nacieron en el mes de setiembre de 2011. Las madres de dichos corderos fueron cruzadas con 3 carneros de la misma raza. Todos los corderos fueron de parto único, y nacieron con un máximo de 12 días de diferencia.

Las ovejas gestantes fueron mantenidas en un mismo potrero bajo las mismas condiciones de manejo y alimentación. Se formaron dos grupos experimentales de corderos de forma homogénea de acuerdo al día de nacimiento y al peso. Identificándose como: 1) grupo criado artificialmente (CA, n=14): los corderos fueron separados de las madres a las 24-36 horas después de nacidos; y 2) grupo criado por las madres (CM, n=13): corderos criados por su madres, los cuales permanecieron con la misma hasta los 75 días de vida.

Los corderos CA fueron alimentados a través de tetinas artificiales con leche proveniente del ordeño de las madres o de otras ovejas. La cantidad de leche y frecuencia de administración se ajustó para mantener un peso corporal similar a la de los corderos CM. Durante los primeros 7 días de vida se les suministró 0,5-0,7 L dividido en 6 tomas diarias, a las 8:00 h, 10:00 h, 12:00 h, 14:00 h, 16:00 h y 19:00 h. Desde el día 8 al 15 se les dio 0,8-1 L dividido en 4 tomas diarias a las 8:00 h, 12:00 h, 16:00 h y 19:00 h. Desde el día 16 hasta el día de destete se les suministró 3 tomas diarias 8:00 h, 12:00 h y 19:00 h. A partir del día 16 hasta el día 30 se les suministró 1,0-1,3 L, y desde el día 31 hasta el día 75, se les dio 1,4-1,6L en 2 tomas diarias. Durante la alimentación, los corderos CA tuvieron el mínimo contacto necesario con los seres humanos. Todos los corderos fueron pesados cada 7-15 días. Para reducir las diferencias en las relaciones sociales que podrían incidir en el proceso de aprendizaje, se alojaron 4 ovejas adultas que tenían corderos de edad similar a los corderos experimentales en el mismo potrero con los corderos CA.

Durante los primeros 15 días de vida, todos los corderos se alojaron en dos corrales cerrados durante la noche, con una temperatura ambiental de 20 a 23°C. A partir de los 15 días, los dos grupos se manejaron en diferentes potreros de 25x50 m cada uno. Los corderos tenían libre acceso a sombra artificial hecha con una tela de sombra con el apoyo de un cuadrante de hierro (área=4,5 m², altura=0,8 m).

El destete se realizó cuando los corderos tenían en promedio 75 días de vida (entre 69 y 81 días de edad). Las madres de los corderos CM y las 4 ovejas con corderos alojadas en el potrero de los corderos CA fueron trasladadas a otro potrero donde no tenían contacto visual ni acústico con los corderos en experimentación. En ese mismo momento los corderos CA dejaron de recibir la leche materna.

Luego del destete ambos grupos fueron mantenidos en potreros separados de iguales características, con pasturas mejoradas. Se les suministro ración peleteada dos veces al día y fardos de alfalfa ad libitum. Mensualmente se realizó control

parasitario mediante coprología a ambos grupos y se dosificaron con Zolvix (monepantel 2,5%) vía oral o Zuletel (closantel 10%) inyectable s/c.

4.2. Evaluación del comportamiento sexual

El comportamiento sexual de los corderos frente a hembras en celo se registró desde las 13 hasta las 39 semanas de edad. Para ello se contó con 2 ovejas a las cuales se les indujo celo mediante la aplicación de dispositivos intravaginales de progesterona durante 7 días y a su retiro la administración de benzoato de estradiol (1,5 mg/hembra, intramuscular) cada 12 hs.

Las ovejas fueron colocadas en corrales de iguales características (5 x 5 m). Los corderos fueron ingresando en forma individual y alterna a los diferentes corrales permaneciendo durante 20 min con la hembra. Al finalizar la prueba cada hembra permaneció con la misma cantidad de machos de cada grupo. Los observadores (uno para cada test) registraron los siguientes comportamientos: número de olfateos ano-genitales (OAG), acercamientos laterales (AL), flehmen (F), intentos de monta (IM), montas (M), montas con eyaculación (ME) y se calculó montas totales (MT: montas + montas con eyaculación).

4.3. Muestras de sangre y determinación de testosterona

Las muestras de sangre se obtuvieron cada 7-15 días mediante venopunción yugular desde la semana 0 hasta la 40 de edad. Las mismas se centrifugaron a 1500 rpm por 15 min para obtener suero, el que fue almacenado a -20°C hasta la determinación hormonal. A partir de las mismas se determinaron las concentraciones séricas de testosterona por RIA, utilizando un kit comercial de fase sólida (TKPG, Count-A-Count, Siemens, Los Ángeles, CA, EEUU). El coeficiente de variación intra-ensayo e inter-ensayo fueron menores al 6% y la sensibilidad fue de 0,163 nmol/L.

4.4. Análisis estadísticos

Las frecuencias de los comportamientos sexuales, el peso corporal y las concentraciones séricas de testosterona fueron analizadas por ANOVA para mediciones repetidas, donde se incluyó el efecto del grupo (CA vs CM), de la edad (semanas) y la interacción entre ambos. Los resultados son expresados como la media \pm EEM.

5. RESULTADOS

5.1. Peso

No hubo efecto grupo en los cambios de peso hasta la semana 39 ($p=0,4$). Se encontró efecto de la edad en los cambios de peso ($p<0,0001$), el cual se incrementó significativamente desde la semana 11 hasta la semana 25 ($p<0,0001$), manteniéndose luego relativamente constante hacia el final del periodo (Figura 1). Hubo interacción entre grupo y tiempo ($p=0,0028$) en los cambios de peso, pero no se encontró diferencia significativa en el peso entre grupos en ninguna semana.

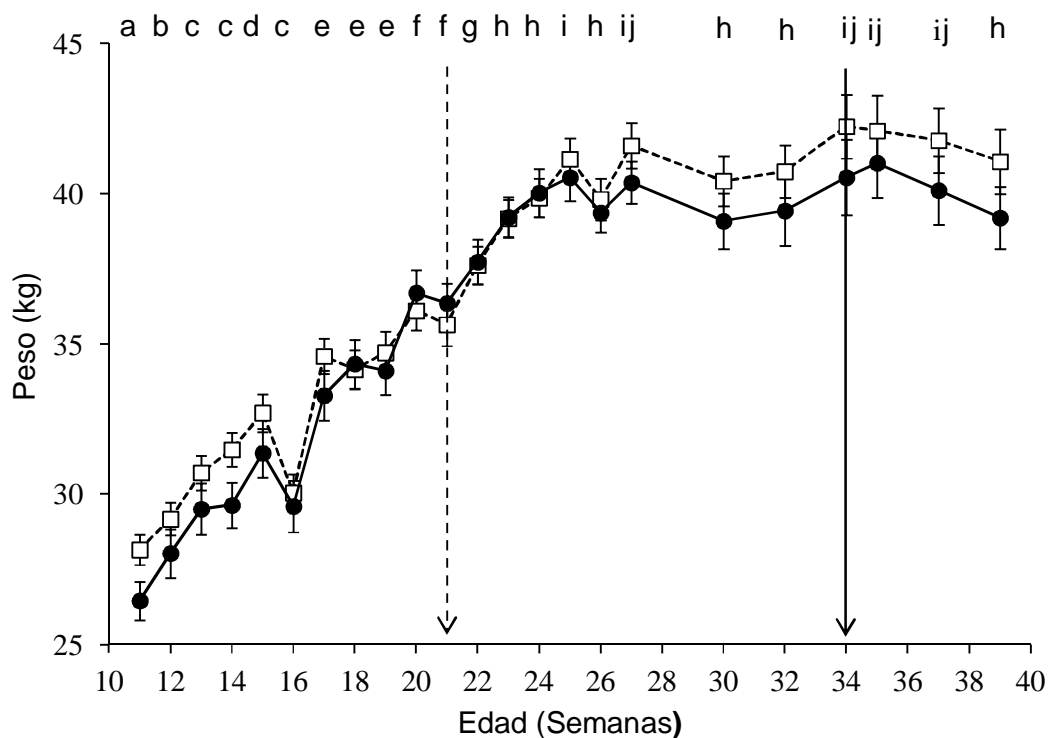


Figura 1. Peso corporal de corderos criados artificialmente (CA:--□--) o con sus madres (CM:--●-) a lo largo del desarrollo. Diferentes letras entre semanas difieren $p<0,05$. Líneas verticales (---): indica la fecha de mediados de febrero y la línea (→): indican la fecha de mediados de mayo respectivamente.

5.2. Concentración sérica de testosterona

No hubo efecto grupo ($p=0,7$), pero sí efecto de la edad ($p<0,0001$) en la concentración de testosterona sérica. La concentración sérica de testosterona se mantuvo relativamente estable desde la semana 0 a la semana 17 (Figura 4). De la semana 17 a la 18 se registró el primer aumento (un pico) importante en la concentración ($p<0,0001$). A partir de la semana 19 fue mostrando variaciones, hasta llegar a la semana 26, donde se observó el valor máximo ($p=0,0009$). La concentración disminuyó hasta la semana 37 ($p<0,0001$), registrándose un nuevo pico en la semana 39 ($p<0,0001$). Hubo una interacción entre grupo y tiempo ($p<0,0001$) en los cambios de concentración sérica de testosterona durante el

período experimental, el cual puede ser explicado por mayores concentraciones del grupo CM en las semanas 18, 21, 26 y 30. Por otro lado, en la semana 25, 27 y 38 se registraron mayores valores en los animales CA.

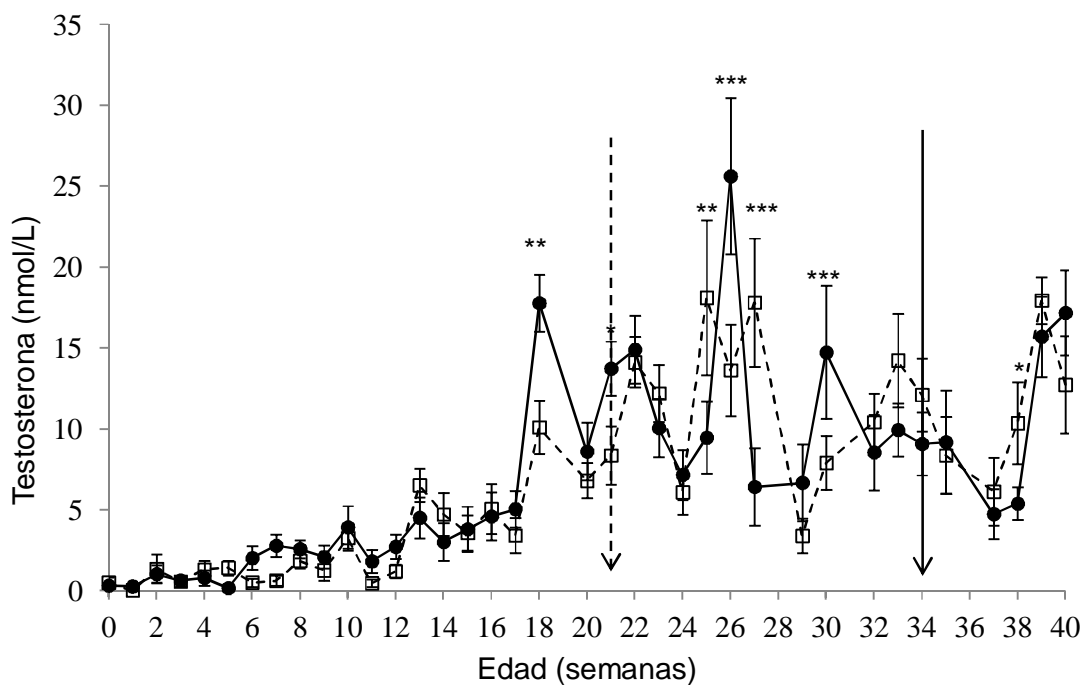


Figura 2. Concentración sérica de testosterona desde la semana 0 a la semana 40 de corderos criados artificialmente (CA:--□--) o con sus madres (CM:●-). Diferencias ente grupos para una misma semana se indican como: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$. Líneas verticales (---) indica la fecha de mediados de febrero (→) indica la fecha de mediados de mayo respectivamente.

5.3. Comportamiento sexual con hembras

Para la frecuencia de AL hubo efecto grupo, los corderos CM presentaron una mayor frecuencia de AL que los CA ($8,5 \pm 1,2$ vs $4,8 \pm 1,1$ respectivamente, $p=0,029$). No hubo efecto de grupo en la frecuencia OAG ($p=0,20$) y F ($p=0,79$). Todos los comportamientos se incrementaron con la edad ($p<0,05$). No hubo interacción entre grupo y tiempo para ningún comportamiento AL ($p=0,67$), OAG ($p=0,82$) y F ($p=0,85$).

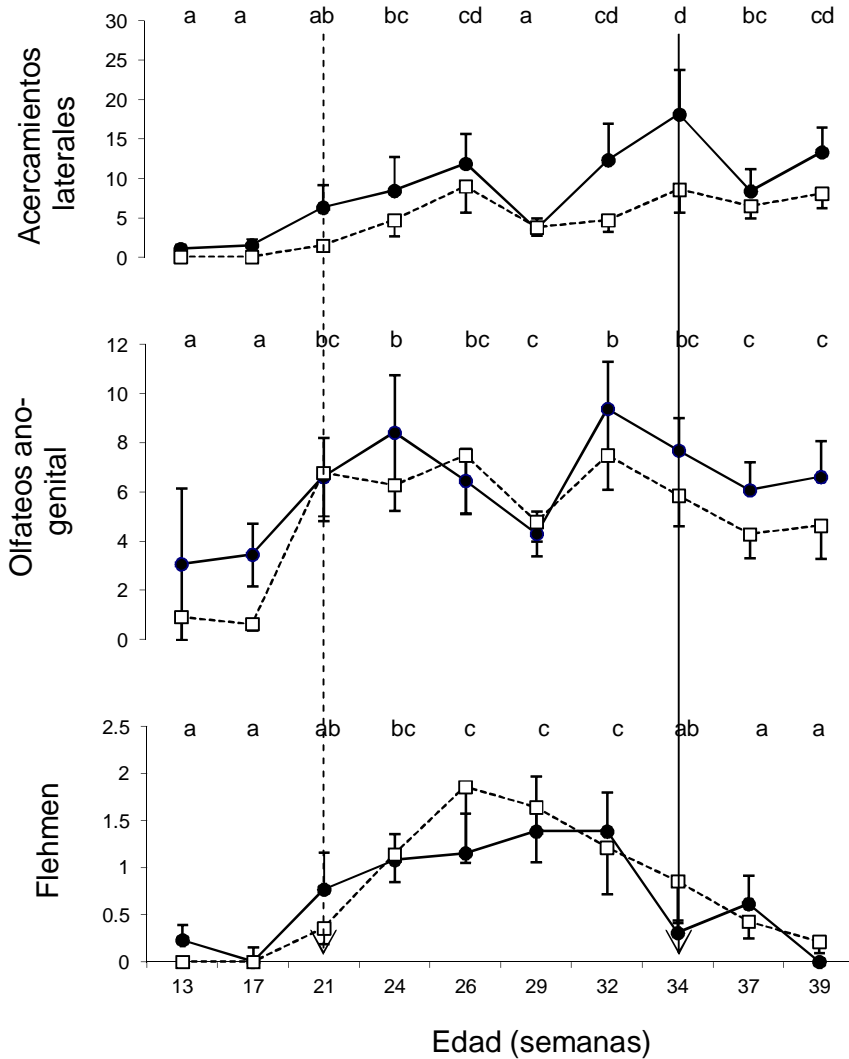


Figura 3. Frecuencia de olfateos ano-genital, acercamientos laterales y flehmen desde la semana 13 a la semana 39 de corderos criados artificialmente (CA:--□--) o con sus madres (CM:--●--). Diferentes letras entre semanas difieren $p<0,05$. Líneas verticales (---) indica la fecha de mediados de febrero, (→) indica la fecha de mediados de mayo respectivamente.

5.3.1. Comportamientos de monta

Para la frecuencia de IM hubo efecto grupo, los corderos CM presentaron mayor frecuencia de IM que los CA ($0,87 \pm 0,18$ vs $0,21 \pm 0,17$ respectivamente, $p=0,013$). No hubo efecto de grupo en la frecuencia de M ($p=0,17$), ME ($p=0,26$) y MT ($p=0,16$). Todos los comportamientos se incrementaron con la edad ($p<0,05$). Se presentó interacción entre grupo y tiempo para la frecuencia de M ($p=0,02$) el cual puede ser explicado por los mayores valores en la frecuencia de monta en el grupo CM en la semana 32 y en la semana 39 que en el grupo CA. También hubo interacción entre grupo y tiempo para la frecuencia de MT ($p=0,02$) la cual puede ser explicada por los mayores valores en la frecuencia de MT en el grupo CM en la semana 32 y en la semana 39 que el grupo CA (Figura 4). No hubo interacción entre grupo y tiempo para las frecuencias de IM ($p=0,14$) y ME ($p=0,78$).

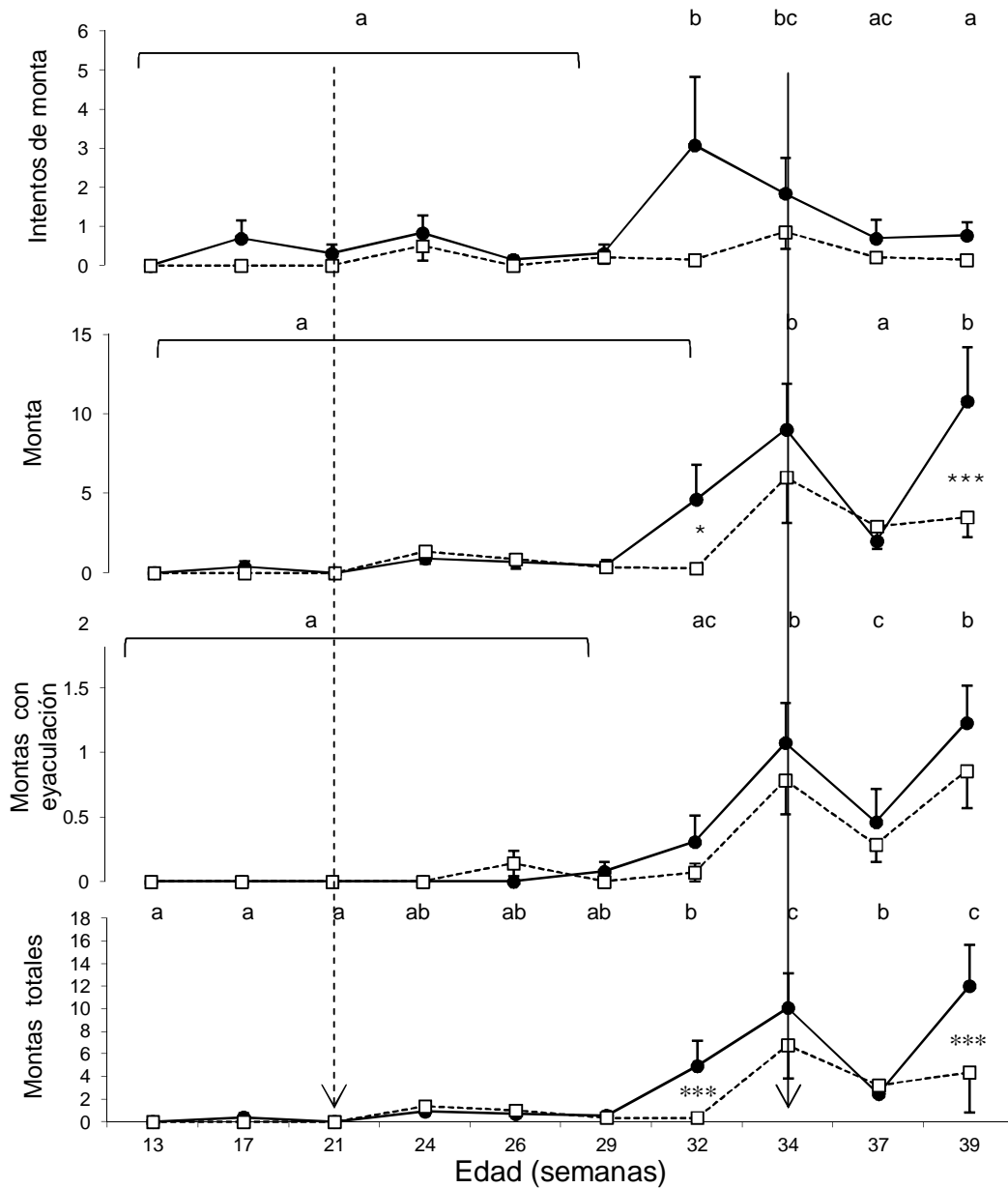


Figura 4. Frecuencia de intentos de monta, montas, montas con eyacuación y montas totales de la semana 13 a la semana 39 de corderos criados artificialmente (CA:--□--) o con sus madres (CM:--●--). Diferencias entre grupos para una misma semana se indican como: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$. Diferentes letras entre semanas difieren $p < 0,05$. Líneas verticales (---) indica la fecha de mediados de febrero, (→) indica la fecha de mediados de mayo respectivamente.

6. DISCUSIÓN

En este trabajo se demostró que el comportamiento sexual fue afectado diferencialmente de acuerdo con la presencia y vínculo que tuvieron los corderos criados con su madre durante la etapa de lactancia. De acuerdo con la hipótesis planteada, los corderos CM presentaron un mayor despliegue del comportamiento sexual hacia ovejas en celo durante la primera estación reproductiva que los CA, lo cual fue evidenciado por la mayor frecuencia de AL, IM, M y MT a favor de los CM.

La ausencia de interacción materna durante la lactancia, podría haber afectado negativamente en diferentes niveles, ya sea a nivel hormonal o neuronal durante el desarrollo de los corderos. Se conoce que la separación de la cría de su madre provoca alteraciones hormonales a nivel cerebral. Veenema et al. (2006) comprobaron en roedores que la separación materna de crías macho durante las primeras 2 semanas de vida, modificó las concentraciones cerebrales de vasopresina y serotonina, lo que fue asociado con un aumento del nivel de agresión entre machos cuando adultos. Un resultado similar fue mencionado por Neumann (2009), donde diferencias en las concentraciones de vasopresina, serotonina, y oxitocina entre ratas que fueron separadas de sus madres a las 2 semanas de vida con ratas que permanecieron con las mismas, demostraron cambios comportamentales en la rata adulta, resultando en ratas más agresivas y con una menor actitud maternal. A nivel cerebral, Zhang et al. (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 et al. (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 en carneros Borja y Fabre-NyS (2012) determinaron que estas mismas áreas son las que determinan el comportamiento sexual. Después de repasar las áreas involucradas en el comportamiento reproductivo y de analizar los diferentes trabajos realizados en roedores, podemos sugerir que el vínculo diferencial con la madre pudo haber afectado en alguno de estos niveles a los corderos CA determinando un menor comportamiento sexual en comparación con los CM.

Alteraciones en la conducta maternal, así como períodos de separación materna se han asociado con cambios a largo plazo en la capacidad de respuesta del eje hipotálamico-pituitario-adrenal (HPA) en crías de ratas (Ladd et al., 2000; Lehmann y Feldon, 2000). Los animales expuestos a una separación materna temprana, exhibieron aumento de las respuestas de ACTH y el aumento en el factor liberador de corticotropina hipotalámico ante situaciones de estrés cuando adultos a diferencia de animales que fueron criados con sus madres (Plotsky y Meaney, 1993).

En roedores el período postnatal se caracteriza por una aceleración en el crecimiento neuronal y mielinización (Morgne et al., 2002). En este período el eje HPA muestra una rápida regresión conocida como el período de hiporrespuesta al estrés (SHRP), manteniendo niveles bajos de corticoides que son requeridos para el crecimiento y desarrollo normal del sistema nervioso central (SNC). La presencia de la madre parece suprimir la actividad del eje HPA, y durante la separación materna el período SHRP podría ser interrumpido causando sobreexposición diaria del cerebro a altas concentraciones de glucocorticoides, que pueden posteriormente modular el cerebro y el comportamiento en la vida posterior (Nishi et al., 2012). El cerebro responde al estrés durante el la SHRP por la activación de dos genes tempranos inmediatos (c-fos y NGFI-B) en el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN) y en la corteza cerebral (Smith et al., 1997), en este sentido es conocido que el estrés produce una inhibición a nivel central que afecta la funcionalidad reproductiva. Rosen et al. (1988), afirman que los glucocorticoides inhiben la respuesta a la GnRH, repercutiendo de esta forma en la posterior secreción de LH. En ovinos no hay información a este nivel, pero estos datos nos hacen pensar que la respuesta al estrés debido a la separación materna podría haber afectado en forma diferencial el comportamiento sexual entre animales criados con y sin sus madres. Por lo tanto el estrés asociado a la separación materna podría ser otro elemento que haya perjudicado a mayor medida a los corderos CA.

A nivel reproductivo no hay estudios hasta el momento que fundamenten de manera directa las razones de las diferencias entre aquellos corderos que permanecieron con sus madres de aquellos que no permanecieron. 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 del lamido materno a las crías 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 pocas horas después del nacimiento, éste comportamiento es importante porque retira el líquido presente en el pelaje reduciendo la pérdida de calor del cordero, también desempeña una función importante en la estimulación de la cría a incorporarse y mamar por primera vez (Blauvelt et al., 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 corderos CA permanecieron de 24 a 36 hrs con sus madres permitiéndoles la ingestión de calostro y el acicalamiento. Sin embargo, dado que los corderos CA no siguieron con sus madres luego del día de edad, podemos sugerir que la falta de contacto físico con la madre durante el periodo de crianza artificial podría haber afectado el

comportamiento sexual posterior. Según la literatura la falta de contacto físico con la madre podría estar contribuyendo a un menor desarrollo neural por parte de los CA, determinando un menos comportamiento reproductivo.

No se presentaron diferencias significativas en el peso corporal entre los dos grupos de animales, durante el tiempo que duró el experimento. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Al-Nakib et al. (1986), quienes observaron que los animales criados naturalmente presentaron mayor peso corporal que los animales criados artificialmente. Los propios autores adjudicaron esto a que durante el período que duró la crianza artificial (desde las 24-48 h hasta los 30 días del nacimiento), nunca se ajustó la cantidad de alimento que se les ofrecía a los corderos criados artificialmente, y a que los animales criados naturalmente fueron destetados a los 2 meses, en contraposición a los animales criados artificialmente, que fueron deslechados a los 30 días. En nuestro trabajo, podemos sugerir que la nutrición no fue un factor que afectó en forma diferencial el desarrollo y comportamiento sexual de los corderos, ya que la cantidad de leche de oveja suministrada a los animales CA se ajustó en base a un control semanal del peso corporal para ambos grupos durante la lactancia. En función de esto, en nuestro trabajo se sugiere que las diferencias en el comportamiento sexual son debidas al vínculo y contacto que tuvieron los corderos con sus madres y no a otros efectos.

La concentración sérica de testosterona mostró fluctuaciones durante todo el período experimental, coincidiendo con lo demostrado por Katongole et al. (1974) y Purvis et al. (1974), quienes afirman que para varias especies los niveles de testosterona en plasma muestran marcadas fluctuaciones en períodos relativamente cortos. Además, observaron en carneros adultos hasta 10 pulsos de testosterona en 24 h. En nuestro trabajo no se encontró diferencia entre los grupos, lo que indica que la síntesis de este andrógeno no fue afectada por el manejo realizado a los animales. Este resultado coincide con el reportado años atrás por Illius et al. (1976b), quienes observaron que el patrón de secreción de testosterona en corderos machos de hasta 21 meses de edad no se veía modificado por el entorno social y método de crianza (criados naturalmente o artificialmente). Al-Nakib et al. (1986) encontraron un resultado similar con respecto a la concentración sérica de testosterona, la cual aumentó con la edad sin mostrar diferencias para todos los grupos de corderos en los diferentes métodos de crianza. Sin embargo, en nuestro trabajo en momentos puntuales se presentaron diferencias significativas entre ambos grupos. En las semanas 18 y 21 se observaron diferencias significativas a favor de los animales CM, esto podría sugerir un desarrollo sexual más temprano en los animales criados naturalmente, resultando en una secreción más precoz de mayores niveles séricos de testosterona.

7. CONCLUSIÓN

En conclusión, la presencia de la madre durante la crianza de corderos machos determina una mayor precocidad en la manifestación del comportamiento reproductivo frente a hembras en celo durante la primera estación reproductiva.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Al-Nakib FM, Lodge GA, Owen JB. (1986). A study of sexual development in ram lambs. *Animal Production*, 43: 459-468.
2. Arias AA, Capellari A, Revidatti MA, Slobodzian A. (1998). Diferencias en la ganancia de peso atribuibles al destete precoz en terneros cruza en el NO de Corrientes. *Revista Argentina de Producción Animal*, 18: 240.
3. Avdi M, Banos G, Stefos K, Chemineau P. (2004). Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology*, 62(1): 275-282.
4. Banks EM. (1964). Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *ovis aries*. *Behaviour* 23: 249-279.
5. Barbosa RT, Alencar MN, Barbosa PF.(1991). Comportamiento sexual de toros de la raza Canchim y Nelore. *Revista Brasileira de Reproducción Animal*, 15(3-4): 151-154.
6. Belibasaki S, Kouimtzis S. (2000). Sexual activity and body and testis growth in prepubertal ram lambs of Friesland, Chios, Karagouniki and Serres dairy sheep in Greece. *Small Ruminant Research* 37(1): 109-113.
7. Bellows RA, Riley TM, Kieffer NM, Urick JJ, Brinks JS, Clarck RT. (1964). Preliminary studies of sperm production and breeding ability in young, straight and crossbred bulls. *Journal of Animal Science*, 23 (2): 593-594.
8. Bench CJ, Price EO, Dally MR, Borgwardt RE. (2001). Artificial selection of rams for sexual performance and its effect on the sexual behavior and fecundity of male and female progeny. *Applied Animal Behaviour Science*, 72(1): 41-50.
9. Birke L, Sadler D. (1987). Differences in maternal behavior of rats and the sociosexual development of the offspring. *Developmental Psychobiology*, 20(1): 85-99.
10. 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.
11. 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.
12. 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.

13. Chemineau P, Cagnié Y, Guérin Y, Orgeur P, Vallet JC. (1991). Training manual on artificial insemination in sheep and goats. Animal Production and Health Paper, Rome: FAO. Disponible en: <http://agris.fao.org/aos/records/XF9212181> Fecha de consulta: 12 de octubre de 2013.
14. Chenoweth PJ. (1981). Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. *Theriogenology* 16(2): 155-177.
15. Cirulli F, Terranova ML, Laviola G. (1996). Affiliation in periadolescent rats: behavioral and corticosterone response to social reunion with familiar and unfamiliar partners. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 54(1): 99–105.
16. Córdova A, Nava JR, Pérez JF. (2002). Importancia de las feromonas en la reproducción animal. *Medicina Veterinaria*, 19 (7-8): 99-107.
17. Costa E, Silva EV. (2007). Comportamento e eficiência reprodutiva. *Revista Brasileira de Reproducción Animal*, 31(1): 177-182.
18. Craig JV. (1981). *Domestic Animal Behaviour: causes and implication of animal care and management*. I New Jersey Prestice-Hall. 364 p.
19. Davidson JM, Bloch GJ. (1969). Neuroendocrine aspects of male reproduction. *Biology of Reproduction*, 1(1): 67 - 92.
20. Dickson KA, Sanford LM. (2005). Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the southeastern Canadian prairies. *Small Ruminant Research*, 56(1): 189-203.
21. Donaldson TM, Newberry RC, Spinka M, Cloutier S. (2002). Effects of early play experience on play behaviour of piglets after weaning. *Applied Animal Behaviour Science*, 79(3): 221–231.
22. Dulac C. (1997). Molecular biology of pheromones perception in mammals. In *Seminars in cell and Developmental Biology*, 8(2): 135-144.
23. Dun RB. (1995). Puberty in Merino rams. *Australian Veterinary Journal*, 31(4): 104-106.
24. Dyrmondsson OR. (1973). Puberty and early reproductive performance in sheep rams lambs. *Animal Breeding Abstracts*, 41: 419-430.
25. Dyrmondsson OR. (1981). Natural factors affecting puberty and reproductive performance in ewes lambs; a review. *Livestock Production Science*, 8(1): 55-65.

26. El-Alamy MA, Foote RH, Hare E. (2001) Sperm output and hormone concentrations in Finn and Dorset rams exposed to long- and short-day lighting. *Theriogenology*, 56(5):839-854.
27. Eraser AF. (1968). Reproductive behaviour in ungulates. London, Academic Press. 202p.
28. 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, 657 p.
29. Evans G, Maxwell WM. (1987). Salamon's artificial insemination of sheep and goats. 2^a ed. Sydney, Butterworths, 128 p.
30. Fabre-Nys C. (2000). Le comportement sexual des caprins: controle hormonal et facteurs sociaux. *INRA Producción Animal*, 13(1): 11-23.
31. Fillion TJ, Blass EM. (1986). Infantile experience with suckling odors determines adult sexual behavior in male rats. *Science*, 231(1): 729-731.
32. Foster DL. (1981). Mechanism for delay of first ovulation in lambs born in the wrong season (fall). *Biology of Reproduction*, 25(1): 85-92.
33. 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.
34. Fowler DG. (1962). The effect of light on the semen characteristics of the Merino ram. Conference of the University of New South Wales. Proceeding, 113-117p.
35. Fowler DG, Jenkins LD. (1976). The effects of dominance and infertility of rams on reproductive performance. *Applied Animal Ethology*, 2(4): 327-337.
36. Fagen R. (1981). *Animal Play Behavior*. New York, Oxford University Press. 112 p.
37. Galindo FA, Orihuela A. (2004). Introducción a la Etología Aplicada. En: Galindo, F.A., Orihuela, A. (Eds). *Etología*. México. Universidad Nacional Autónoma de México, p 17-28.
38. Gill W. (2004). *Applied sheep behavior*. Agricultural Extension Service. Disponible en: <http://animalscience.ag.utk.edu/sheep/pdf/AppliedSheepBehavior-WWG-2-04.pdf>. 15 de noviembre de 2013.
39. Gonzalez R, Orgeur P, Poindron P, Signoret JP. (1991). Female effect in sheep. I. The effects of sexual receptivity of females and the sexual experience of rams. *Reproduction Nutrition Development*, 31(1): 97-102.

40. Gordon I. (1999). Controlled reproduction en sheep and goats. Wallingford, UK: Cab International, v.2.
41. Hafez B, Hafez ES. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. 7.ed. México. Mcgraw-hill. 591p.
42. Hall FS. (1998). Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12(1-2): 129–162.
43. Haq CM, Donahoe PK. (1998). Regulation of sexual dimorphism in mammals. *Physiological. Reviews*, 78 (1): 1-33.
44. 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.
45. Henderson DC. (1991). The reproductive cycle and its manipulation. En: Martin W.B, Aitken, I.D. *Diseases of sheep*. Oxford: Blackwell Scientific Public. p. 44-69.
46. Hinde RA, (1974). *Biological Basis of Human Social Behaviour*. New York, MacGraw-Hill, 462 p.
47. Hofer MA. (1994). Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Paediatrica. Suppl*, 87(397): 9–18.
48. Hurnik J, Lewis NI, Taylor A, Pinheiro Machado LC. (1995). *Farm Animal Behaviour-Laboratory manual*. Guelph. University of Guelph, 145 p.
49. 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.
50. 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.
51. Karsch FJ, Bittman LE, Foster LD, Goodman LR, Legan JS, Robinson EJ. (1984). Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. *Recent Progress in Hormone Research*. 40(1): 185-231.
52. Katongole CB, Naftolin F, Short RV. (1974). Seasonal variations in blood luteinizing hormone and testosterone levels in rams. *Journal of Endocrinology*, 60(1): 101-106.
53. 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.

54. Kendrick KM, Hinton MR, Atkins K. (1998). Mothers determine sexual preferences. *Nature*, 395(6699): 229-230.
55. Kilgour RJ. (1993). The relationship between ram breeding capacity and flock fertility. *Theriogenology*, 40(2): 277-285.
56. Knight TW, Brich EJ. (1983). Identification of pheromones which will stimulate anoovular ewes to ovulate. *Proceedings of the Endocrine Society of Australia*. 22, suppl (2):3.
57. Knight TW. (1983) Ram induced stimulation of ovarian and oestrous activity in anoestrous ewes, a review. *Proceedings of annual conference-New Zealand Society of Animal Production*, 43:7-11.
58. Koolhaas JM, Meerlo P, De Boer SF, Strubbe JH, Bohus B. (1997). The temporal dynamics of the stress response. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 21(6): 775-782.
59. Kridli RT, Shaker MM, Abdullah AY, Muwalla MM. (2007). Sexual behaviour of yearling Awassi, Charollais x Awassi and Romanov x Awassi rams exposed to oestrous Awassiewes. *Tropical Animal Health and Production*, 39(3): 229-235.
60. Ladd CO, Huot RL, Thirivikraman KV, Nemeroff CB, Meaney MJ, Plotsky PM (2000). Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Progress in Brain Research*, 122: 81-103.
61. Ladewig J, Price EO, Hart BL. (1980) Flehmen and vomeronasal organ function in male goats. *Physiology and Behavior*, 24:1067-1071.
62. Lehmann J, Feldon J. (2000). Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? *Reviews in the Neuroscience*, 11: 383-408.
63. Leibbrandt V, Ewan R, Speer V, Zimmerman D. (1975) Effect of weaning and age at weaning on baby pig performance. *Journal of Animal Science*, 40(6): 1077-1080.
64. Levine S, Haltmeyer GC, Karas GG, Denenberg VH. (1967). Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. *Physiology and Behavior*, 2(1): 55-59.
65. Lévy F, Keller M. (2008). Neurobiology of Maternal Behavior in Sheep. *Advances in the Study of Behavior*, 38: 399-437.
66. Lincoln G, Davidson, W. (1977). The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49(2): 267-276.

67. Louw DF, Joubert DM. (1964). Puberty in the male Dorper sheep and Boer goat. *South African Journal of Agriculture Science*, 7: 509-520.
68. 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.
69. Malpoux B, Viguié C, Skinner DC, Thiéry JC, Pelletier J, Chemineau P. (1996). Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science* 42(1): 109-117.
70. McGlone JJ, Curtis SE. (1985). Behavior and performance of weanling pigs in pens equipped with hide areas. *Journal of Animal Science* 60(1): 20–24.
71. 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.
72. Moore CL. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology*, 17(4): 347-356.
73. Moore CL. (1982). Maternal behavior of rats is affected by hormonal condition of pups. *Journal of Comparative and Physiological. Psychology*, 96(1): 123-129
74. Moore FL. (1981). Techniques for making small hormone-filled capsules. *General and Comparative Endocrinology*, 43(3): 409.
75. Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(4): 471-483.
76. Neumann ID. (2009). The advantage of social living: Brain neuropeptides mediate the beneficial consequences of sex and motherhood. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30: 483-496.
77. Newberry RC, Swanson J, (2001). *Breaking social bonds. Social Behaviour in Farm Animals*. Wallingford. CAB International, 307 p.
78. Nishi M, Horii-Hayashi N, Sasagawa T, Matsunaga W. (2012). Effects of early lifestress on brain activity: Implications from maternal separation model in rodents. *General and Comparative Endocrinology*, 181: 306-309.
79. 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.

80. Pacheco A, Quirino CR. (2010). Comportamento sexual em ovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 34(2): 87-97.
81. 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.
82. Pelletier J, Carrez-Camous S, Thiery JC. (1981). Basic neuroendocrine events before puberty in cattle, sheep, and pigs. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 30: 91-102.
83. Pelletier F (2005). Foraging time of rutting bighorn rams varies with individual behavior, not mating tactic. *Behavioral Ecology*, 16(1):280-285.
84. Plotsky PM, Meaney MJ. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Molecular Brain Research*, 18: 195–200.
85. Poindron P, Le Neindre P. (1980). Endocrine and sensory regulation of maternal behaviour in the ewe. *Advances in the Study of Behavior*, 11: 76-119.
86. 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.
87. Price EO. (2002). *Animal domestication and behavior*. Wallingford, CAB, 297p.
88. 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.
89. 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.
90. Price EO. (1987). Male sexual behavior. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 3(2): 405-422.
91. Price EO, Smith VM. (1984). The relationship of male-male mounting to mate choice and sexual performance in male dairy goats. *Applied Animal Behavior Science*, 13(1): 71-83.
92. Purvis K, Illius AW, Haynes NB. (1974) Plasma testosterone concentrations in the ram. *Journal of Endocrinology*, 61(2): 241-253.

93. Regisford EG, Katz LS. (1993). Effects of bromocriptine-induced hypoprolactinaemia on gonadotrophin secretion and testicular function in rams (*ovis aries*) during two seasons. *Journal of Reproduction and Fertility*, 99(2): 559-537.
94. Rekwot PI, Ogwu D, Oyedipe EO. (2000). Influence of bull, season and parity on resumption of ovarian activity of zebu (*Bos indicus*) cattle following parturition. *Animal Reproduction Science* 63(1): 11- 20.
95. 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.
96. Roselli CE, Resko JA., Stormshak F. (2003). Estrogen synthesis in fetal sheep brain: effect of maternal treatment with an aromatase inhibitor. *Biology of Reproduction*, 68(2): 370 - 374.
97. Rosen H, Jameel ML, Barkan AL. (1988). Dexamethasone suppresses gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion and has direct pituitary effects in male rats: differential regulation of GnRH receptor and gonadotropin responses to GnRH. *Endocrinology*, 122(6): 2873-2880.
98. 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.
99. Sarlós P, Egerszegi I, Balogh O, Molnár A, Cseh S, Rátky J. (2012). Seasonal changes of scrotal circumference, blood plasma testosterone concentration and semen characteristics in Racka rams. *Small Ruminant Research*, 111(1): 90-95.
100. Schanbacher BD. (1979). Increased lamb production with rams exposed to short daylengths during the nonbreeding season. *Journal of Animal Science* 49: 927-932.
101. 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.
102. Scott R, Creel MS, Jack L, Albright MS. (1987). Early experience. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 3(2): 251-268.
103. Seeley R, Stephens T, Tate P. (2003). Serum levels of LH and testosterone in Finnish Landrace and Suffolk rams. *Journal of Animal Science* 43: 644-650.
104. Shah A, Oxley G, Lovic V, Fleming A. (2002). Effects of preweaning exposure to novel maternal odors on maternal responsiveness and selectivity in adulthood. *Developmental Psychobiology*, 41(3): 187-196.

105. Shackleton DM. (1991). Social maturation and productivity in bighorn sheep: are young males incompetent. *Applied Animal Behaviour Science*, 29(1): 173-184.
106. Sharafeldin MA, Kandeel AA. (1971). Post-lambing maternal behaviour. *The Journal of Agricultural Science*, 77(01): 33-36.
107. Sharma SC, Fitzpatrick RJ, Ward WR. (1972). Coital-induced release of oxytocin in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*, 31(3):488-489.
108. Signoret JP, Fulkerson WJ, Lindsay DR. (1982). Effectiveness of testosterone treated wethers and ewes as teasers. *Applied Animal Ethology*, 9(1): 37-45.
109. Simitzis PE, Deligeorgis SG, Bizelis JA. (2006). Effect of breed and age on sexual behaviour of rams. *Theriogenology* 65(8):1480-1491.
110. Skinner JD, Rowson LE. (1968). Puberty in Suffolk and cross-bred rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3): 479-488.
111. Smith MA, Su-Yong K, Helga JJ, Van O, Levine S. (1997). Maternal deprivation and stress induced immediate early genes in the infant rat brain. *Endocrinology*, 138: 4628.
112. Snowden GD, Stellflug JN, Van Vleck LD. (2002). Heritability and repeatability of sexual performance scores of rams. *Journal of Animal Science*, 80(6): 1508-1511.
113. Stellflug JN, Cockett NE, Lewis GS. (2006). The relationship between sexual behavior classifications of rams and lambs sired in a competitive breeding environment. *Journal of Animal Science*, 84(2): 463-468.
114. 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.
115. Symonds M, Elgar M. (2008). The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology and Evolution* 23(4): 220-228.
116. Thiéry JC, Chemineau P, Hernandez X, Migaud M, Malpoux B. (2002) Neuroendocrine interactions and seasonality. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1): 87-100.
117. 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.
118. Todini L, Malfatti A, Terzano GM, Borchese A, Pizzillo M, Debenedet A. (2007). Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean

- goats breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, 67(3): 627-631.
119. Trujillo AO. (2014) La conducta sexual del carnero. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(1): 49-89.
 120. Ungerfeld R, Lacuesta L. (2010). Social rank during pre-pubertal development and reproductive performance of adult rams. *Animal Reproduction Science*, 121(1-2):101-105.
 121. Ungerfeld R, González-Pensado SP. (2008). Social rank affects reproductive development in male lamb. *Animal Reproduction Science*, 109(1): 161-171.
 122. Ungerfeld R, Ramos MA, Moller R. (2006). Role of the vomeronasal organ on ram's courtship and mating behavior, and on mate choice among oestrous ewes. *Applied Animal Behaviour Science*, 99(3): 248-252.
 123. Valencia J, Barron C, Fernandez-Baca S.(1977). Pubertad en corderos Tabasco x Dorset. *Revista Veterinaria México*, 8: 127-130.
 124. Ungerfeld R. (2002). *Reproducción en los animales domésticos*. Montevideo, Melibea, v.1, 291p.
 125. Veissier I, LeNeindre P. (1992). Reactivity of Aubrac heifers exposed to a novel environment alone or in groups of four. *Applied Animal Behaviour Science*, 33(1): 11–15.
 126. Veenema AH, Neumann ID. (2008). Central vasopressin and oxytocin release: regulation of complex social behaviours. *Progress in Brain Research*, 170: 261-276.
 127. Veenema AH, Blume A, Niederle D, Buwalda B, Neumann ID. (2006) Effects of early life stress on adult male aggression and hypothalamic vasopressin and serotonin. *European Journal of Neuroscience*, 24(6): 1711–1720.
 128. Walkden-Brown SW, Martin GB, Restall BJ. (1999). Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 52: 243-257.
 129. Walker SK, Ponzoni RW, Walkley JR, Morbey AS. (1985). The development of male reproductive traits in progeny of Merino strains of different reproductive performance. *Animal Reproduction Science* 8(1):61-78.
 130. Waran NK, Clark N, Farnworth M. (2008). The effects of weaning on the domestic horse (*Equus caballus*). *Applied Animal Behaviour Science*, 110(1): 42-57.
 131. Weary DM, Jasper J, Hotzel MJ. (2008). Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, 110(1): 24-41.

132. Wellington GH, Hogue DE, Foote RH. (2003) Growth, carcass characteristics and androgen concentrations of gonad-altered ram lambs. *Small Ruminant Research* 48(1): 51-59.
133. Wheaton RL, Godfrey RW. (2003). Plasma LH, FSH, testosterone and age at puberty in ram lambs actively immunized against an inhibin- subunit peptide. *Theriogenology*, 60(5): 933-941.
134. Winans SS, Scalia F. (1970). Amygdaloid nucleus: new afferent input from the vomeronasal organ. *Science*, 170(3955): 325-344.
135. Yeates NT. (1949). The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial means using light. *The Journal of Agricultural Science*, 39(1): 1-43.
136. Zarazaga LA, Malpoux B, Chemineau P. (2003). Amplitude of the plasma melatonin nycthemeral rhythms is not associated with the dates of onset and offset of the seasonal ovulatory activity in the Ile-de-France ewe. *Reproduction Nutrition Development*, 43(2): 167-177.
137. Zenchak JJ, Anderson GC. (1980). Sexual performance levels of rams (*ovis aries*) as affected by social experience during rearing. *Journal of Animal Science*, 50(1): 167-174.
138. Zhang LX, Levine S, Dent G, Zhan Y, Xing G, Okimoto D, Gordon MK, Post RM, Smith M A. (2002). Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. *Developmental Brain Research*, 133(1): 1-11.