



Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

¿Contribuye el ambiente de desarrollo  
intrauterino a las diferencias posnatales  
intracamada en fisiología y conducta?: El caso  
del conejo doméstico.

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Eliseo Cruz Sánchez

Codirectores

Dra. Margarita Juárez Romero

Dr. Amando Bautista Ortega

Comité tutorial

Dra. Robyn E. Hudson

Dra. Leticia Nicolás Toledo

## **Agradecimientos**

Al Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UAT.

A los apoyos financiados por: CONACyT 25889-N, ECS- 218193; PAPIIT IN229907 y a la beca de ANUIES.

Esta Tesis se realizo bajo la codirección de la Dra. Margarita Juárez Romero y del Dr Amando Bautista Ortega, así como la asesoría de la Dra. Robyn E. Hudson y de la Dra. Leticia Nicolás Toledo. La asistencia técnica brindada por la Q. F. B. Laura García Rivera y de las Carolina Rojas, fue fundamental en la realización de este proyecto.

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

## RESUMEN

Una pregunta central en biología se refiere al origen de las diferencias individuales en fisiología, morfología y conducta. Teniendo en cuenta que la expresión del genotipo de un individuo es moldeado por el ambiente en el que es expuesto.

En roedores se sabe que el sitio de implantación está asociado con el peso corporal de los individuos. Los fetos y placentas implantados cerca del ovario son más pesados, en comparación con los implantados en la región media y la región cercana al cérvix. Se tiene evidencia de que la porción media del cuerno uterino posee menor número de vasos sanguíneos. Así una menor irrigación trae como consecuencia por una parte, menor disposición de nutrientes y por lo tanto bajo peso de las crías y por otra parte, menor aporte de oxígeno y en consecuencia estrés a las crías implantadas en dicha región del cuerno uterino. Sin embargo, a pesar de que las condiciones desfavorables que prevalecen en esta región del cuerno uterino, resulta que las placentas de estas crías son más eficientes.

El otro factor que explica las diferencias individuales son las hormonas gonadales del sexo de los hermanos adyacentes (SHA). En el ratón se ha reportado que los fetos machos gestados *in útero* entre hembras (OM) presentan mayor concentración de estradiol y los fetos hembras que se encuentran entre dos machos (2M) tienen mayor concentración de testosterona, mayor distancia anogenital y son más agresivas.

En nuestro laboratorio hemos encontrado en crías del conejo doméstico claras diferencias individuales en el peso al nacimiento. Los individuos más pesados de la camada durante la primera semana de vida postnatal tienen un mejor desarrollo locomotor, mayor ingestión de leche, mejor eficiencia para termorregular conductualmente, menor concentración de corticosterona y por lo tanto una mayor probabilidad de sobrevivencia, en comparación con sus hermanos más ligeros. Es posible que estas diferencias posnatales se deban al ambiente intrauterino en el que se desarrollaron. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar en el conejo doméstico si factores prenatales tales como el sitio de implantación y sexo de los hermanos adyacentes están relacionados con fisiología (concentraciones de testosterona, corticosterona y peso al nacimiento), morfología (distancia anogenital) y conducta (competitividad en crías juveniles)

Para ello utilizamos 18 camadas de conejas de la raza Chinchilla que fueron ovariectomizadas unilateralmente. Diez conejas fueron asignadas al grupo 1 y 8 al

grupo 2. El objetivo del grupo 1 ( $n=10$  camadas) fue determinar la relación entre el sitio de implantación (SI) de las crías con la distancia anogenital y el peso al nacimiento. Además, determinar la relación entre el sexo de los hermanos adyacentes (SHA) y las concentraciones de testosterona y corticosterona sérica de las crías a las dos horas de nacidas. El objetivo del grupo 2 ( $n= 8$  camadas) fue analizar la interacción de los dos factores (SHA y SI) sobre el crecimiento de las crías durante la primera semana de vida y competitividad de las crías juveniles.

Encontramos que las crías más pesadas al nacimiento estuvieron implantadas en una posición cercana al ovario. La distancia anogenital fue mayor en las hembras 2M. La concentración de testosterona a las dos horas de nacimiento de las crías no se vio influenciada por el sexo de los hermanos adyacentes. Sin embargo, las crías más pesadas tuvieron mayores concentraciones de corticosterona. La competitividad de las crías juveniles no estuvo asociada con el SHA ni con el SI.

Estos resultados sugieren que en el conejo doméstico como en otros mamíferos, que la región uterina cercana al ovario está provista de mayor irrigación uterina la cual favorece mejor desarrollo fetal y placentar, pero sin embargo, una menor eficiencia placentaria. Las crías hembras cuya posición intrauterina fue 2M se masculinizan, la cual se puede constatar por una mayor distancia anogenital, indicando así que durante el periodo crítico de diferenciación sexual hay transferencia de testosterona proveniente de los machos hacia las hembras. Sin embargo, posterior a este periodo crítico, la concentración sérica de testosterona de las crías hembras es indistinto de la posición intrauterina. Este hallazgo a su vez concuerda con los resultados de competitividad que no estuvieron relacionados con el SHA.

Índice	Pag.
<b>1. Introducción</b> .....	6
1.1 Influencia del sitio de implantación sobre el peso al nacimiento en mamíferos .....	7
<b>1.2 Efecto de las hormonas gonadales sobre el desarrollo del fenotipo morfológico, fisiológico y conductual</b> .....	8
<b>1.2.1 Diferenciación sexual</b> .....	9
<b>2. Antecedentes</b> .....	11
2.1 El conejo como modelo de estudio.....	11
2.1.2 <i>Diferencias individuales en el conejo doméstico</i> .....	12
<b>2.2 Influencia del ambiente intrauterino</b> .....	12
2.2.1 <i>Influencia del sitio de implantación intrauterino sobre el peso al nacimiento y concentración de corticosterona</i> .....	12
2.2.2 <i>Influencia del sexo de los hermanos adyacentes y concentración de testosterona</i> ....	13
<b>3. Justificación</b> .....	13
<b>4. Hipótesis</b> .....	14
<b>5. Predicciones</b> .....	14
5.1 <i>Etapa posnatal</i> .....	14
5.2 <i>Etapa del destete</i> .....	14
<b>6. Objetivo general</b> .....	15
<b>7. Objetivos específicos</b> .....	15
7.1 <i>Etapa predestete, del día 1 al 25 (del nacimiento al destete)</i> .....	15
7.2 <i>Etapa postdestete (pruebas de competencia)</i> .....	15
<b>8. Metodología</b> .....	15
8.1 <i>Animales</i> .....	15
8.2 <i>Procedimiento general</i> .....	16
8.3 <i>Primer grupo (decapitación al nacimiento)</i> .....	18
8.4 <i>Segundo grupo (a largo plazo)</i> .....	18
<b>9. Competencia por agua</b> .....	19
<b>10. Cuantificación de las hormonas</b> .....	20
<b>11. Análisis estadístico</b> .....	20
<b>12. Resultados</b> .....	21
12.1 <i>Características de las camadas al nacimiento</i> .....	21

<i>12.1.1 Sitio de implantación y peso al nacimiento .....</i>	22
<i>12.1.2 Peso de la placenta y eficiencia placentaria .....</i>	23
<i>12.1.3 Concentración de corticosterona .....</i>	26
<i>12.1.4 Crecimiento y supervivencia de las crías al destete.....</i>	27
<i>12.1.5 Competencia por agua al destete .....</i>	29
<i>12.2 Características de las crías asociadas al sexo de los hermanos adyacentes .....</i>	31
<i>12.2.1 Supervivencia y características de las crías al nacimiento.....</i>	32
<i>12.2.2 Concentración de testosterona sérica en crías a las dos horas de nacidas y su relación con el sexo de los hermanos adyacentes .....</i>	33
<i>12.2.3 Distancia anogenital y relación con el sexo de los hermanos adyacentes.....</i>	34
<i>12.2.5 Relación entre el sexo de los hermanos adyacentes y competencia por agua .....</i>	35
<b>13. Discusión.....</b>	39
<b>14. Conclusiones.....</b>	42
<b>15. Referencias .....</b>	43

## **1. Introducción**

El origen de las diferencias individuales en fisiología y conducta ha retomado un especial interés en las últimas décadas. Desde el punto de vista evolutivo, las diferencias individuales fenotípicas son el sustrato en el que opera la selección natural. Ante la ausencia de diferencias no existirían variantes favorecidas (Brodie y Russell 1998) .

Estas variaciones fenotípicas tienen un componente genético que se encuentra modulada por factores prenatales y posnatales (Sgoifo 2005). En la etapa prenatal, se tiene evidencias que el sitio de implantación (SI) y el sexo de los hermanos adyacentes (SHA) puede influir en tales variaciones.

### **1.1 Influencia del sitio de implantación sobre el peso al nacimiento en mamíferos**

En mamíferos, el peso al nacimiento tiene una gran importancia desde el punto de vista médico. Aquellos individuos con bajo peso son más propensos a padecer enfermedades (intolerancia a la glucosa así como la diabetes tipo 2 en la etapa adulta) y tienen poca probabilidad de sobrevivencia (Barker y Clark 1997)

El peso al nacimiento en gran medida está determinado por las características de la placenta, pues a través de ésta estructura los nutrientes les llega a los fetos (Fowden y cols. 2006b) En el ratón, el peso corporal de los fetos se ha correlacionado positivamente con el peso de la placenta (Coan y cols. 2008). La capacidad de la placenta para transferir nutrientes depende de factores tales como el tamaño, la morfología, el flujo sanguíneo y la abundancia de transportadores de nutrientes (Fowden y cols. 2006b) A pesar de que los fetos con mayor peso corporal presentan placentas más pesadas, las placentas más ligeras resultan ser más eficientes para transferir nutrientes al feto. La eficiencia placentaria se define como los gramos de feto producido por gramos de tejido fetal, y una manera sencilla de calcularla es dividiendo el peso fetal entre el peso de la placenta (Wilson y cols. 1999, Fowden y cols. 2009). En especies como la rata, ratón y cerdo la eficiencia placentaria dentro de la camada puede variar hasta un 100% o más. Pero de manera general bajo condiciones normales en rata, ratón, cabra, cerdo e incluso en el humano, las placentas más ligeras son más eficientes a diferencia de las placentas más pesadas (Fowden y cols. 2009). Además, la característica intrínseca del sitio de implantación confiere a cada feto y su placenta un desarrollo diferencial. Por ejemplo, en algunas especies como el ratón (McLaren y

Michie, 1960; Louton y cols.1988), la rata (Neroli y Neville 1978; Vom Saal y Dhar 1992) y el cerdo (Perry y Rowell 1969; Rohde y cols. 1990; Wise y cols. 1992; 1997), las placentas y fetos más pesados se encuentran implantados en los extremos del cuerno uterino, mientras que los más ligeros se localizan en posición intermedia. Se ha sugerido (McLaren y Michie 1960, Vom Saal y Dhar (1992) que esta variación en el peso se puede explicar por la irrigación diferencial del útero, siendo la parte intermedia del útero menos irrigada. Así una menor irrigación y consecuencia una reducción en la disponibilidad de oxígeno, es posible que traiga como consecuencia estrés prenatal. Al menos en el cerdo, los lechones hembras de 3 días de edad presentan mayores concentraciones de cortisol en comparación con los lechones más pesados (Klemcke y cols 1993).

El otro factor prenatal que se sabe tiene influencia en las diferencias individuales es la posición intrauterina. En especies polítoicas, el fenómeno de la posición intrauterina ha sido ampliamente estudiado. La posición intrauterina se refiere al lugar que ocupa un feto dentro del cuerno uterino, con respecto a machos y hembras adyacentes. De acuerdo a esta definición, Vom Saal en 1989, determino en el ratón 3 categorías. 2M, los fetos que se encuentran entre dos machos. 1M, los fetos que se encuentran entre un macho y una hembra. 0M, los fetos que se encuentran entre dos hembras. Las evidencias que se tienen del fenómeno de la posición intrauterina en especies polítoicas a continuación se describen.

## **1.2. Efecto de las hormonas gonadales sobre el desarrollo del fenotipo morfológico, fisiológico y conductual**

El ratón fue una de las primeras especies polítoicas en la que se estudio el fenómeno de la posición intrauterina, teniendo como antecedente las observaciones en bovinos. Las vacas que gestaban un macho y hembra, aproximadamente el 90% de los casos las hembras eran estériles. La explicación a este “fenómeno” fue que la testosterona producida por las gónadas del macho se transferia a la hembra mediante la fusión de algunos vasos sanguíneos, provocando la atrofia de los genitales internos de la hembra (Nelson 2005 ). Así, Vom Saal (1989) condujo una serie de estudios en donde confirmó que las hembras de ratón 2M a diferencia de las hembras 0M, tienen mayor concentración de testosterona fetal, mayor distancia anogenital y en la etapa adulta son más agresivas hacia otras hembras y menos atractivas sexualmente hacia los machos



(Vom Saal y Bronson 1980; Vom Saal 1981;1982 y 1989; Ryan y Vandenberg 2002). Algunas de estas evidencias también se han observado en otras especies. Por ejemplo, en el jerbo las hembras 2M en comparación de las 0M, presentan mayor concentración de testosterona fetal, mayor número de motoneuronas en la médula espinal del musculo bulbocavernoso, cuando son adultas tienen una mayor proporción de crías macho en la camada. En los machos 2M a diferencia de los 0M, poseen mayor tamaño testicular, presentan un incremento en el marcaje odorífero y un mejor desempeño sexual (Clark y cols. 1989; 1991; 1992a; 1992; 1993; Forger y cols. 1996). En el cerdo, las hembras 2M y 0M presentan concentración de testosterona y distancia anogenital similar; en los machos el tamaño de los testículos también es similar entre los individuos 2M y 0M (Rohde y cols. 1990). Alternativa a la hipótesis de la posición intrauterina se planteo la hipótesis del macho caudal, en el que se sugiere que la testosterona van en dirección del cérvix al ovario, por lo tanto las hembras que tienen mayor número de machos adyacentes del lado cervical tienen mayor concentración de testosterona y en consecuencia se masculinizan. Tal es el caso de los fetos de hurón hembra que tienen mayor concentración de testosterona cuando tienen un número considerable de fetos machos del lado cervical (Krohmer y Baum 1989). Lo mismo se ha reportado en la rata (Houtsmuller y cols. 1993).

En humanos, la gestación simultanea de niño y niña no influye sobre las concentración de testosterona en la etapa juvenil; sin embargo, en la etapa adulta las mujeres son más agresivas (Cohen-Bendahan y cols. 2005) y presentan una menor adecuación (Lummaa y cols. 2007).

Las diferencias morfológicas, fisiológicas y conductuales en las especies anteriormente descritas, se deben a que durante el periodo prenatal la producción de testosterona ocurre antes que la de estrógenos, lo que conlleva a una masculinización en las hembras (Block y Klein. 1971, Feldman y Bloch 1978). Por ejemplo en el ratón, la producción inicia en el día 12 de gestación hasta el 5 posnatal (Vandenberg 2004). En el humano, ocurre aproximadamente entre la séptima y octava semana de gestación. Dado que la testosterona es una hormona liposoluble, atraviesa la membrana plasmática por difusión facilitada de las membranas fetales llegando al líquido amniótico de los fetos adyacentes. En rata se ha mostrado una mayor recuperación de testosterona en el líquido amniótico de los fetos adyacentes que fueron implantados con cápsula de testosterona, lo cual apoya la idea anterior (Even y cols. 1992).

### 1.2.1 Acción de las hormonas gonadales sobre la diferenciación sexual

La diferenciación sexual en un individuo (macho o hembra) ocurre a diferentes niveles de organización del individuo. Inicia con la diferenciación sexual cromosómica en el momento de la fertilización. En mamíferos el gameto femenino que es fertilizado por un espermatozoide que porta el cromosoma X dará lugar a una hembra, pero si es fertilizada por un cromosoma Y, entonces dará lugar a un macho. Posterior al sexo cromosómico le continúa el sexo gonadal, durante esta etapa se puede distinguir la presencia de las gónadas (testículos u ovarios). Una vez diferenciadas las gónadas, los testículos en el macho producen predominantemente testosterona, los ovarios en las hembras estrógenos y progesterona, este periodo se le denomina sexo hormonal. La acción de estas hormonas esteroides determina características tales como el tamaño, los genitales externos, ornamentación entre otros ocurre procesos importantes tales como la masculinización y defeminización en el macho y feminización en la hembra (Figura 1). A esta etapa se le llama sexo morfológico. Por último se distingue el sexo conductual, la cual se refiere a conductas específicas del sexo, es decir las hembras despliegan conducta maternal (Nelson 2005).

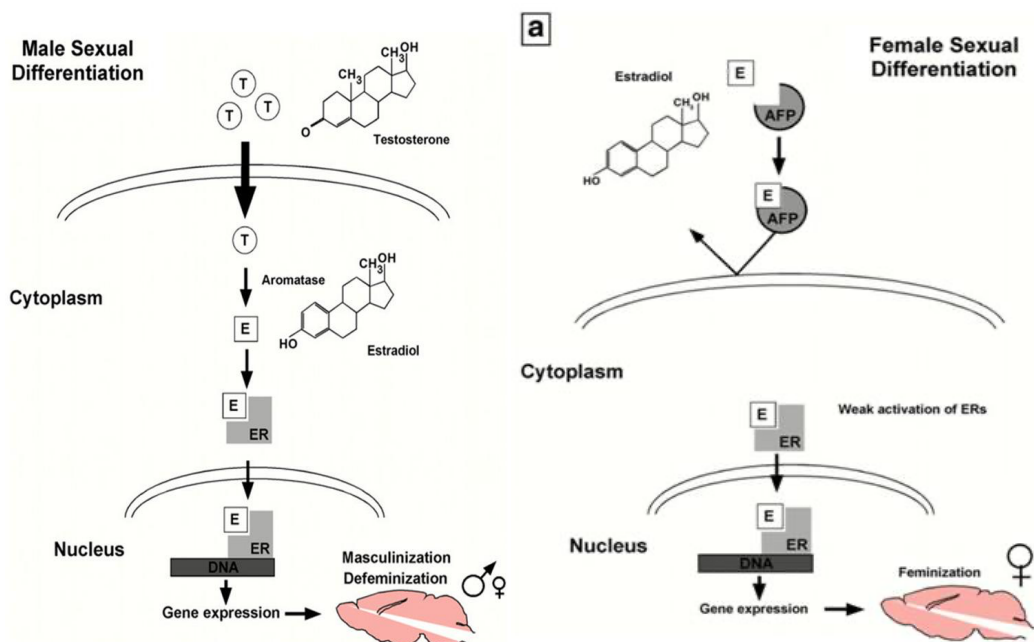


Figura 1. Diferenciación sexual en cerebro de machos y hembras

Se tiene evidencia en algunas especies que las conductas sexualmente dimórficas se establecen en el momento de la pubertad (Arteaga y cols. 2008), la cual está asociado

con la producción de hormonas gonadales, pero se desconoce que ocurre en la etapa juvenil. Por ello el interés de nuestro interés de buscar la relación del fenotipo conductual de crías juveniles con su historia temprana de desarrollo.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 El conejo como modelo de estudio**

La renombrada capacidad reproductiva que tiene la coneja, permite ver claras diferencias en el peso de las crías ya que puede llegar a parir hasta 15 crías ( Hudson y cols. 1999 y Martínez-Gómez y cols. 2002) .Aun tras la remoción de un ovario el tamaño de camada no se ve afectado. El arreglo anatómica que tiene los cuernos uterinos con su cervix independiente permite determinar al nacimiento el sitio de implantación y el sexo de las crías tras la remoción de uno de los ovarios. Además, la facilidad de las hembras de criar camadas que no son propias permite la utilización de conejas nodrizas. Finalmente, la inusual conducta maternal que despliegan las hembras permite manipular la camada sin alterarla.

En los últimos años trabajando con el conejo doméstico, tenemos evidencias claras de las diferencias individuales.

#### *2.2 Diferencias individuales en el conejo doméstico.*

En nuestro laboratorio encontramos que hay una evidente variación en el peso nacimiento de los gazapos de una misma camada. La cría más pesada tiene tres veces más peso corporal que su hermano más ligero (23.2-81.6 g). Mayor peso corporal al nacimiento les confiere mayor probabilidad de sobrevivencia durante la primera semana de vida postnatal. Al destete conserva este mayor peso con respecto a sus hermanos más ligeros (Drummond y cols. 2000). Además, el mayor peso corporal está asociado con un mejor desarrollo locomotor (Muciño y cols. 2008), mayor ingestión de leche, mayor conversión de leche a biomasa (Bautista y cols. 2005, Rödel y cols. 2008) y una mejor eficiencia para termorregular conductualmente (Bautista y cols. 2008).

### **2.1 Influencia del ambiente intrauterino**

#### *2.1.1 Influencia del sitio de implantación intrauterino sobre el peso al nacimiento*

Se tiene evidencia de que el peso de fetos y placentas a término está asociado con el sitio de implantación uterina. En conejas intactas con gestación a término, los fetos y sus placentas implantados cerca del ovario son significativamente más pesados que los implantados alejados del ovario (Roshan y Greene 1936). Argente y colaboradores (2003) corrobora en conejas ovariectomizadas unilateralmente con gestación a término que, los fetos y sus placentas que se encuentran cerca del ovario así como los que están

implantados cerca del cérvix son significativamente más pesados en comparación con los que se encuentran en la parte intermedia del útero. Además, determinaron que las placentas más ligeras que pertenecen a los fetos más ligeros, son más eficientes que las placentas más pesadas.

### *2.1.2 Sexo de los hermanos adyacentes*

En el conejo recientemente reportaron evidencias del efecto de los hermanos adyacente sobre la morfología y conducta. El estudio fue realizado en conejas ovariectomizadas unilateralmente y determinaron al nacimiento que las crías hembras 2M presentaban una mayor distancia anogenital en comparación con las hembras 0M. En la etapa adulta las hembras 2M conservaron grande la distancia anogenital y mostraron una alta frecuencia de marcaje del mentón en comparación con las hembras 0M. Estas diferencias fueron atribuidas a la exposición prenatal de testosterona proveniente de los hermanos adyacentes (Bánszegi y cols. 2009).

En el conejo la producción de testosterona incrementa conforme se aproxima el parto. En el día 31 de gestación los fetos machos alcanzan una concentración de testosterona de 361 pg/ml, mientras que las hembras de 41 pg/ml (Veysiere y cols.1976). Al nacimiento la concentración de testosterona en los machos es de 279 pg/ml (Berger y cols. 1976).

Respecto a la concentración de corticosterona, se tiene un reporte al nacimiento tanto de 11500 pg/ml (Mulay y cols. 1973).

### **3. Justificación**

consideramos que la originalidad de este estudio radica en que nosotros vamos a determinar en qué medida el ambiente intrauterino explica el desarrollo postnatal de los productos hasta la edad juvenil. Creemos que es importante evaluar el periodo postnatal porque en éste se consolida el fenotipo conductual, lo cual no había sido valorado en los anteriores estudios.

Además, se desconoce en el conejo doméstico si la posición intrauterina está relacionada con las concentraciones de testosterona y el sitio de implantación con las concentraciones de corticosterona.

#### **4. Hipótesis**

El ambiente de desarrollo intrauterino (sitio de implantación y sexo de los hermanos adyacentes) está asociado a las diferencias postnatales intracamada en fisiología y conducta en crías del conejo doméstico.

#### **5. Predicciones**

##### *5.1 Etapa predestete*

Las crías (macho o hembra) cuyo desarrollo intrauterino ocurrió entre dos machos tendrán mayor concentración de testosterona y mayor distancia anogenital.

Las crías (macho o hembra) y las placentas que se desarrollaron en los extremos del cuerno uterino serán las más pesadas al nacimiento, a diferencia de las que se desarrollaron en un sitio intermedio.

Las placentas más pesadas tendrán mayor eficiencia placentaria.

Las crías (macho o hembra) que se desarrollaron en los extremos del cuerno uterino y que además estuvieron entre dos machos tendrán:

- mayor supervivencia
- mayor ingestión de leche
- mayor crecimiento
- menor concentración de corticosterona.

##### *5.2 Etapa posdestete*

Las crías (macho o hembra) que se desarrollaron en los extremos del cuerno uterino, y que estuvieron entre dos machos, serán más competitivas.

#### **6. Objetivo general**

Determinar si las diferencias postnatales en fisiología (concentraciones de testosterona, corticosterona y crecimiento), morfología (distancia anogenital) y conducta (al destete en pruebas de competencia por agua) están asociadas por los dos factores del ambiente intrauterino (el sitio de implantación en el cuerno uterino y el sexo de los hermanos adyacentes) en el conejo doméstico.

## **7. Objetivos específicos**

### *7.1 Etapa predestete, (día 1 -25 postnatal)*

- Investigar si el sitio de implantación intrauterina está asociado con el peso al nacimiento, el crecimiento, supervivencia y las concentraciones de corticosterona.
- Investigar si el sexo de los hermanos adyacentes en la etapa intrauterina, está asociado con la concentración de testosterona, distancia anogenital y éxito competitivo en crías.
- Investigar si existe una interacción entre el sitio de implantación y sexo de los hermanos adyacentes está asociado con los valores de las variables de respuesta.

### *7.2 Etapa postdestete (día 26-47 postnatal)*

- Investigar si el sitio de implantación intrauterina está asociado con el desempeño competitivo en pruebas de competencia por agua.
- Investigar si el sexo de los hermanos adyacentes en la etapa intrauterina está asociado con el desempeño competitivo en pruebas de competencia por agua.
- Investigar si los valores de las variables de respuesta están asociadas a una interacción entre el sitio de implantación y sexo de los hermanos adyacentes.

## **8. Metodología**

### *8.1 Animales*

Se utilizaron 18 camadas provenientes de 18 conejas adultas de la raza chinchilla. Las conejas fueron mantenidas en jaulas individuales de acero inoxidable de 90 x 60 x 40 cm, bajo condiciones estándar de bioterio; con un ciclo de luz-obscuridad de 16-8 h, horario que corresponde aproximadamente a las condiciones del pico reproductivo en verano para esta especie en Europa. Se les proporcionó alimento comercial Albapesa<sup>®</sup> y agua *ad libitum*.

### *8.2 Procedimiento general*

A los cuatro meses de edad a las conejas se les removió quirúrgicamente el ovario izquierdo (ovariectomía unilateral). El objetivo de la ovariectomía fue determinar la posición que ocuparon las crías dentro del cuerno uterino. Un mes post-ovariectomía,

las conejas fueron apareadas con un macho sexualmente experto, dentro de una arena circular de malla de alambre de un metro de diámetro.

En el día 30 de gestación a las 10:00 horas, se llevó la coneja al sistema de registro para su habituación. El sistema consistió en un mueble de madera con un piso una malla de alambre. La malla tenía una abertura aproximadamente de 2 cm<sup>2</sup> ,que evitaba que las crías fueran retenidas en la jaula al momento del parto. Bajo la malla se encontraba un espejo colocado a 45° que permitió observar la región ventral de la coneja y las crías en el momento que eran expulsada del tracto vaginal (Figura 1). En el día 31 de gestación a las 09:00 horas se indujo el parto aplicando intramuscularmente 5 UI de oxitocina (Syntocinon<sup>®</sup>). Conforme las crías eran expulsadas, se limpiaron y se les identificó individualmente con un número en la espalda, e inmediatamente se colocaron en una caja nido que contenía pelo de la coneja y paja (Figura 2). En todos los casos a la primera cría que fue expulsada, así como su placenta (gestadas cerca del cérvix) se les designó el número uno, la segunda se le designó como la cría número 2 y así sucesivamente.



**Figura 1.** Sistema de registro de parto y obtención de las crías.

Una vez identificadas las crías así como sus placentas fueron pesadas en una balanza electrónica portátil (OHAUS<sup>®</sup> con sensibilidad de 0.1g). Posteriormente las



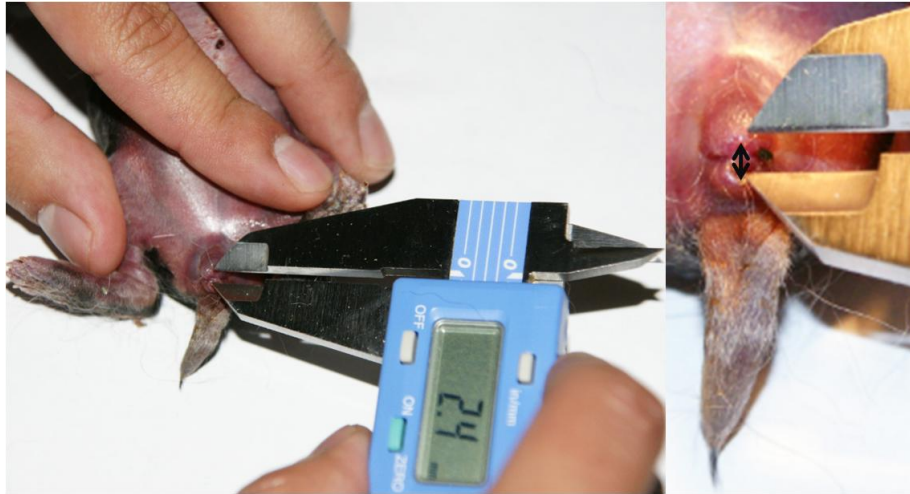
crías fueron devueltas al nido. Si la camada pertenecía al grupo 1, las crías eran decapitadas dos horas después del nacimiento. Sin embargo, si era asignada al grupo 2, entonces permanecían 24 horas con la madre nodriza sin perturbación humana.



**Figura 2.** Caja nido elaborado de paja y pelo de la coneja conteniendo una camada con las crías previamente identificadas después del parto.

### *8.3 Grupo 1 (decapitación al nacimiento)*

El grupo estuvo constituido por 10 camadas que fueron decapitadas de manera aleatoria a las 2 horas de vida postnatal. La decapitación se realizó con una guillotina y la sangre obtenida fue colectada directamente en tubos eppendorf, posteriormente fue centrifugada (Eppendorf) a 10,000 rpm durante 15 minutos. El suero fue almacenado a  $-30.7^{\circ}\text{C}$  para la posterior cuantificación de testosterona y corticosterona. Minutos después del sacrificio, se procedió a medir la distancia anogenital (DAG) con un vernier digital (Mitucoyo). La DAG fue considerada como el espacio que hay entre la papila genital y el ano (Figura 3). Finalmente se identificaron las gónadas de las crías para así poder designar la categoría 0M, 1M, 2M. La categoría 2M fue asignada cuando una cría se encontraba entre machos, 1M para las crías que se encontraron entre un macho y una hembra y 0M para las crías que se encontraron entre dos hembras o entre una hembra y un extremo del cuerno uterino.



**Figura 3.** Medición de la distancia anogenital, entre el punto medio de la papila genital a el punto medio del ano.

#### 8.4 Grupo 2 (seguimiento a largo plazo)

El grupo 2 estuvo conformado por 8 camadas que fueron criadas por conejas nodrizas hasta el destete. Para ello las conejas a las que solo se les indujo el parto fueron apareadas un día después de las conejas nodrizas, con el fin de asegurarnos de que las nodrizas tuvieran la camada el día de la inducción del parto y así poder intercambiarlas.

Un día después del parto considerado como día 1, a las 10:00 h las crías de la camada fueron pesadas y separadas de la nodriza.

Del día 2 al 10 posnatal, 30 minutos antes del amamantamiento a las crías se les indujo la expulsión de orina y fueron pesadas antes y después del amamantamiento.

Del día 10 al 25 solamente se pesaron antes y después del amamantamiento ya que para esta edad fue difícil inducir la expulsión de orina.

En el día 25 postnatal después del amamantamiento las crías fueron separadas y alojadas en jaulas individuales con agua y alimento *ad libitum*. A partir de este momento fueron sexadas y se les asignó la categoría 0M, 1M o 2M.

### 9. Competencia por agua

Las pruebas de competencia por agua se realizaron intracamada.

En los días 26, 36 y 46 a las 10:00 horas cada camada fue habituada por 5 minutos a la arena. La arena es una estructura metálica circular de un metro de diámetro rodeada de malla de alambre. En la arena se colocó un vaso de precipitado con una capacidad de 150 ml por cada tres crías (Figura 4). A las 19:00 horas de estos mismos días fue retirado el bebedero, privándolos de agua por 15 horas.

En los días 27, 37 y 47 a las 10:00 horas se realizó la prueba de competencia por agua. Esta consistió en colocar en la arena de prueba un vaso de precipitado con 100 ml de agua por cada 3 conejos. Los conejos fueron identificados individualmente de acuerdo al orden de nacimiento, posteriormente fueron colocados en el centro de la arena y videograbaron por 5 minutos con una cámara (Sony?). De las videograbaciones se obtuvo los siguientes parámetros.

*Latencia al recurso:* Tiempo (segundos) que transcurre desde que se introduce la cría a la arena hasta llegar al vaso de precipitado.

*Acaparamiento del recurso:* Tiempo (segundos) que transcurre en el que la cría monopoliza vaso de precipitado.

*Desplazamientos:* Destitución de la cría que se encuentra monopolizando el vaso de precipitado.



**Figura 4.** Arena de prueba con una camada durante la prueba de competencia por agua. Los vasos de precipitado se colocan en los extremos opuestos.

## 10. Cuantificación de las hormonas

La extracción de los esteroides totales contenidos en el suero de cada conejo se realizaron por duplicado con éter dietílico. Una vez mezclado vigorosamente el disolvente con el suero, la fase orgánica se separó de la fase acuosa, cada tubo

eppendorf fue sometido a congelación a  $-29^{\circ}\text{C}$ ; al congelarse la fase acuosa, la fase orgánica se decantó a otro tubo eppendorf y se evaporó por sequedad. Los tubos con su correspondiente extracción fueron almacenados a refrigeración  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su ensayo con la técnica de ELISA. Para disolver la hormona, a cada tubo conteniendo su correspondiente extracto total de esteroide, se le agregó una solución de salina y etanol (5:1, v/v). La testosterona fue valorada usando un kit comercial (DSL-10-4000 ACTIVE<sup>®</sup> Testosterona) y la corticosterona fue valorada usando un kit comercial (Assay Designs Enzyme Immunoassay Kit Corticosterona). El ensayo estándar y muestras fueron corridos por duplicado.

### **11. Análisis estadístico**

Para el sitio de implantación, se determinaron tres posiciones: extremo cervical, medio y extremo ovárico. De acuerdo al número de crías en cada camada, se asignaron un número igual de crías en las tres posiciones.

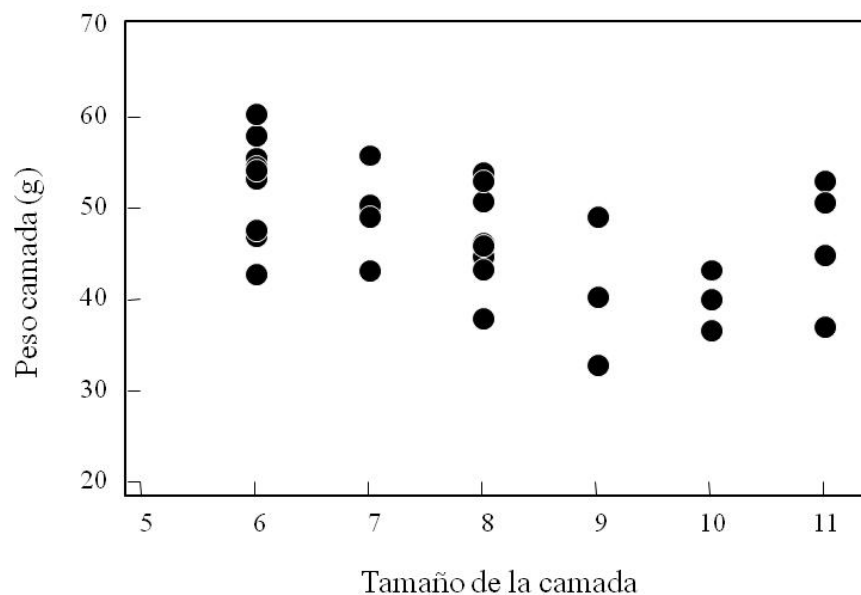
Dado que el tamaño de camada influye en el peso corporal de las crías, se optó por obtener la diferencia porcentual. Este parámetro se calculó del peso absoluto de la cría multiplicado por 100, el valor obtenido fue dividido entre el peso promedio de la camada y restándole 100.

El análisis de los datos se realizó en el programa GraphPad Prism versión 5.

## 12. Resultados

### 12.1 Características de las camadas al nacimiento

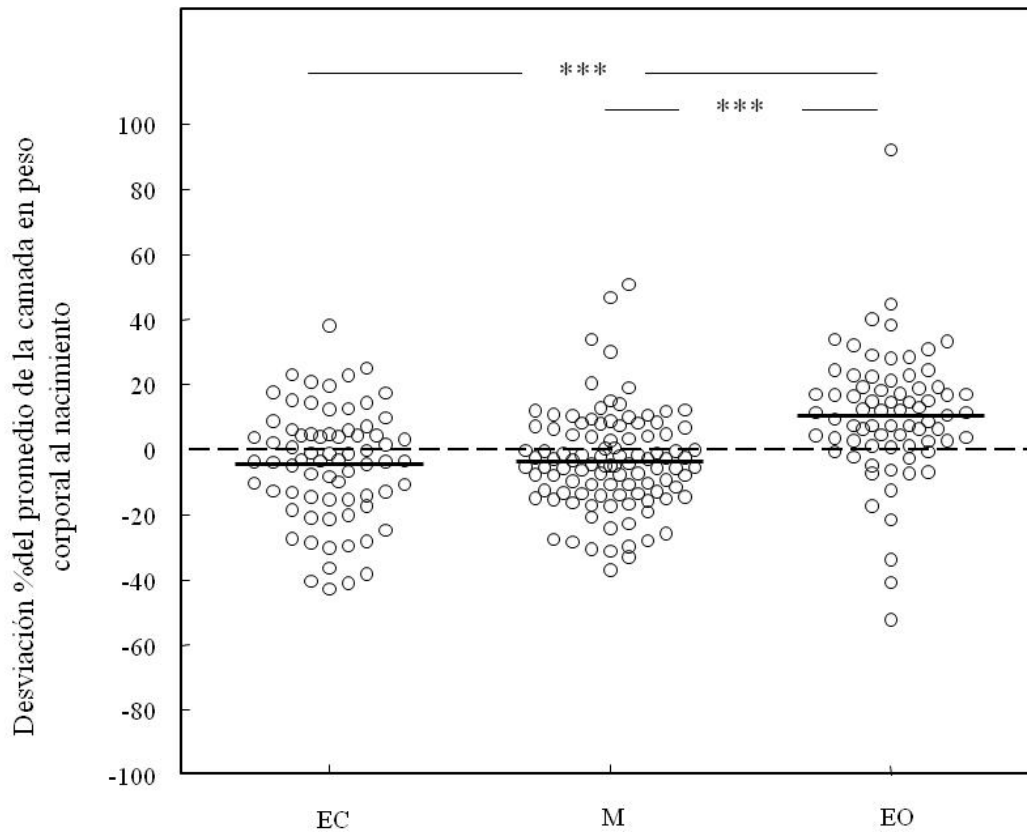
Se obtuvieron datos de un total de 34 camadas que fueron registradas durante todo el experimento. El tamaño de camada estuvo en un rango de 6-11 crías y una clase modal de 6. El peso de las crías vivas al nacimiento fue de 21.8-70 g. Esta gran variación estuvo asociada al tamaño de camada. Se encontró que al aumentar el tamaño de camada el peso de las crías disminuía. (correlación de Pearson  $r = -0.5185$ ,  $p = 0.0017$ ; Gráfica 1).



**Gráfica 1.** Correlación negativa (Pearson,  $r = -0.5185$ ,  $p = 0.0017$ ) entre el peso promedio de las crías y el tamaño de camada. Cada punto representa el peso promedio de la cría por camada.

#### 12.1.1 Sitio de implantación y peso al nacimiento

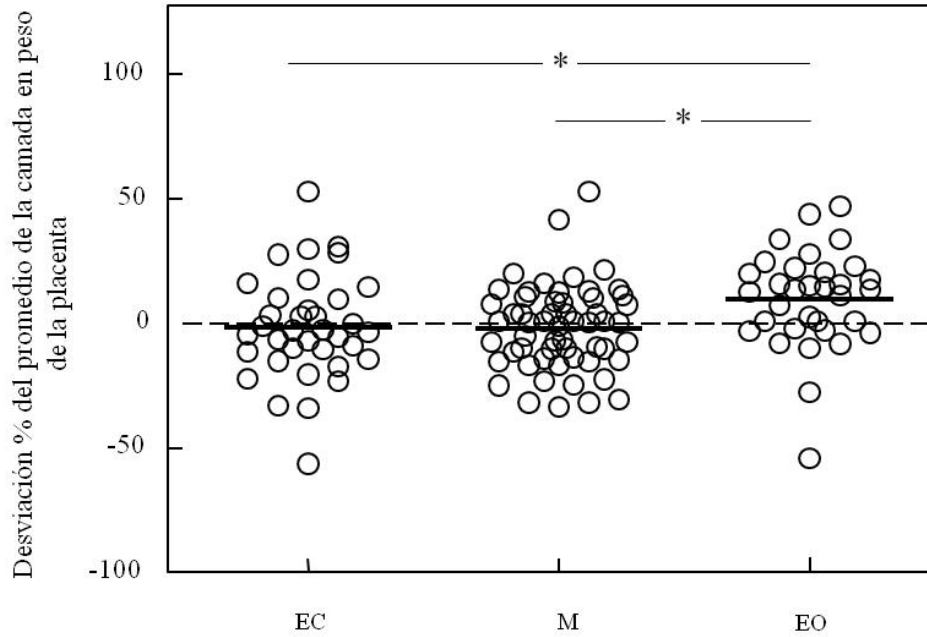
Se encontraron diferencias significativas del peso de las crías al nacimiento asociado con el sitio de implantación. ( $KW = 40.03$ ,  $p = 0.0001$ ,  $n = 249$  crías). Las crías que se implantaron cercanas al ovario alcanzaron porcentajes superiores al promedio de la camada, lo cual indica mayor peso corporal en comparación con las que se implantaron en la parte media o en el extremo cervical, como se muestra en la Gráfica 2.



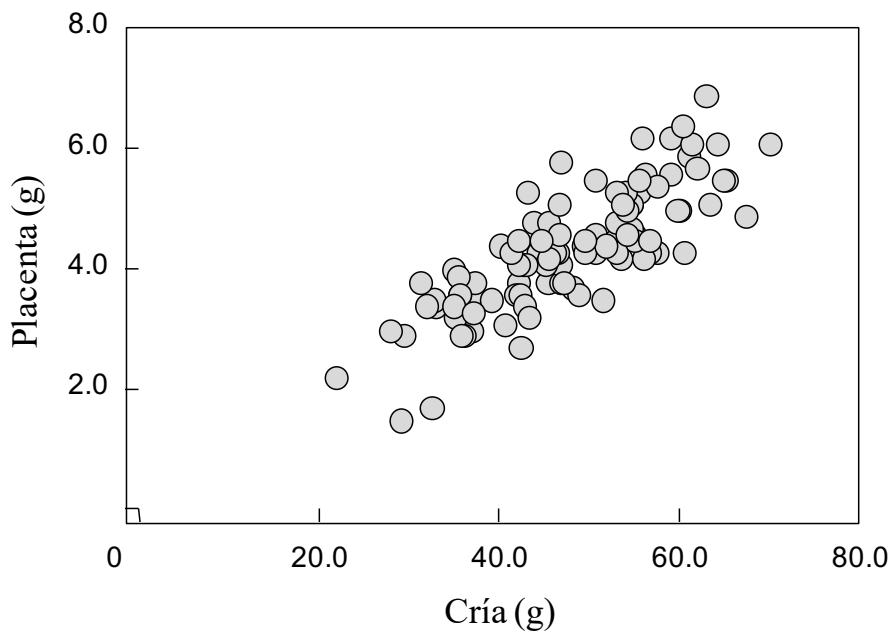
**Gráfica 2.** Las crías implantadas en el extremo ovárico presentaron mayor peso corporal expresado en porcentaje. Cada punto representa una cría. EC= extremo cervical, M= medio y EO= extremo ovárico.

### 12.1.2 Peso de la placenta y eficiencia placentaria

Los resultados obtenidos fueron de 21 camadas. El peso de las placentas mostró un patrón similar al peso de las crías. Las placentas cercanas al ovario fueron las pesadas, en comparación con las que se encontraban implantadas en una posición media o cercana al cérvix ( $F(2, 125) = 4.420, p = 0.0140, n = 126$ ) (Gráfica 3). Además, se encontró una correlación positiva entre el peso de las placentas y peso de las crías al nacimiento ( $r = 0.8026, p = 0.0001$ ). Gráfica 4



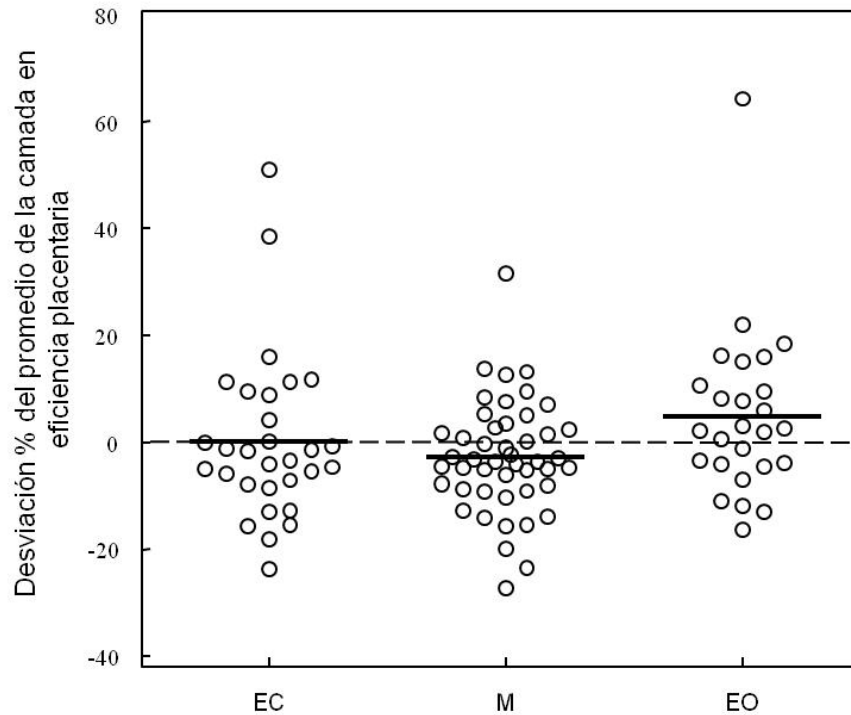
**Gráfica 3.** Desviación % del peso de la placenta con respecto al sitio de implantación. Cada punto representa una placenta. EC= extremo cervical, M= medio y EO= extremo ovárico.



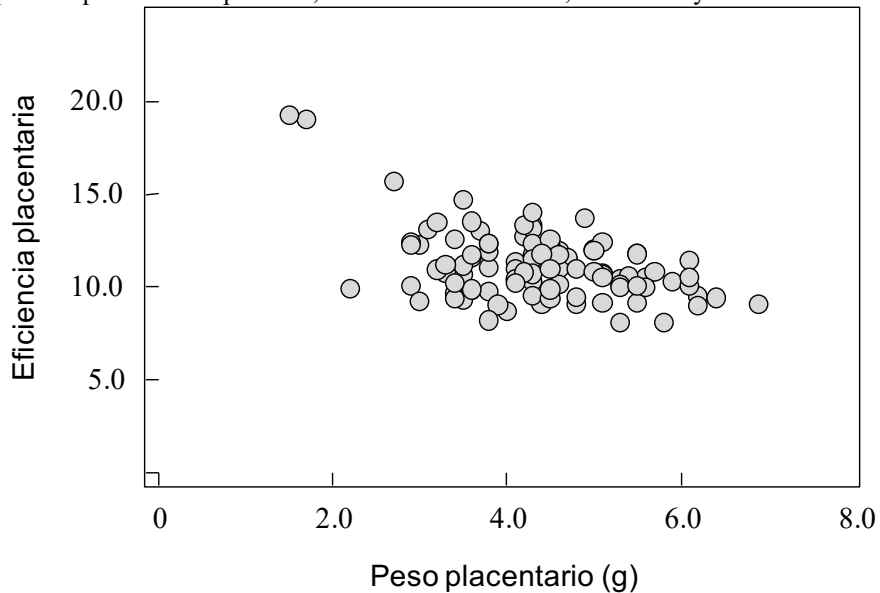
**Gráfica 4.** Las placentas más pesadas correspondieron a los fetos más pesados.

La eficiencia placentaria no estuvo asociado con el sitio de implantación en las 18 camadas registradas, es decir que tanto las placentas que se implantaron en el extremo cervical así como las implantadas en la parte media y en el extremo ovárico producen de igual manera gramos de feto por placenta ( $KW= 5.141, p= 0.0765, n= 103/ 18$  camadas) (Gráfica 5). Sin embargo, cuando se consideró solamente la eficiencia placentaria y el

peso de las placentas, se encontró una correlación negativa; es decir que las placentas más ligeras produjeron más gramos de tejido fetal que las más pesadas. ( $r_s = -0.2681$ ,  $p = 0.0062$ ,  $n = 103/18$  camadas). Gráfica 6.



**Gráfica 5.** No hubo una relación entre eficiencia placentaria y sitio de implantación en el cuerno uterino. Cada punto representa una placenta, EC= Extremo cervical, M= Mitad y EO= Extremo ovárico.

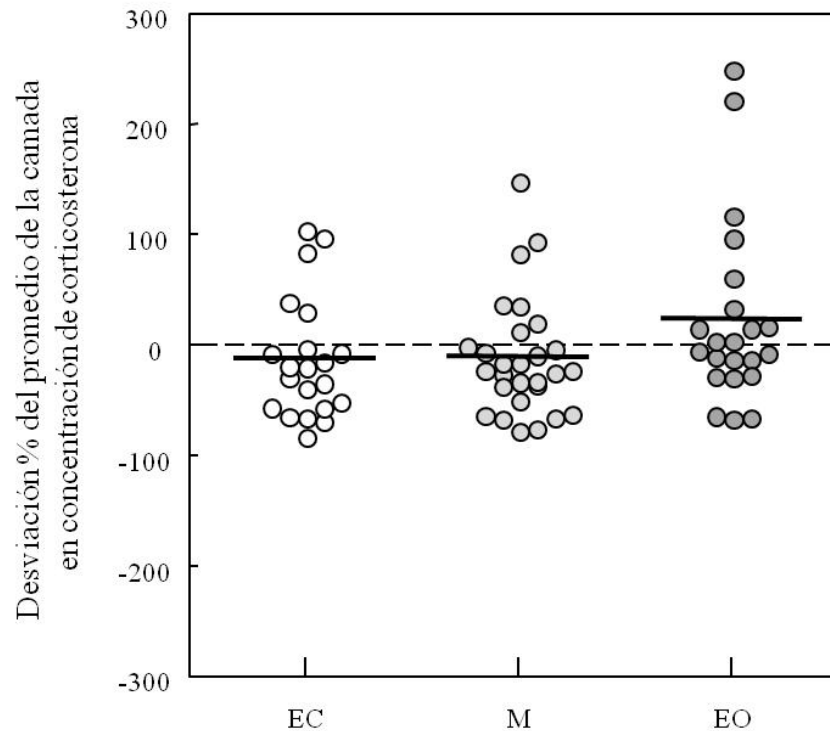


**Gráfica 6.** Correlación negativa entre eficiencia placentaria y peso de la placenta nacimiento. Cada punto representa un individuo.

### 12.1.3 Concentración de corticosterona

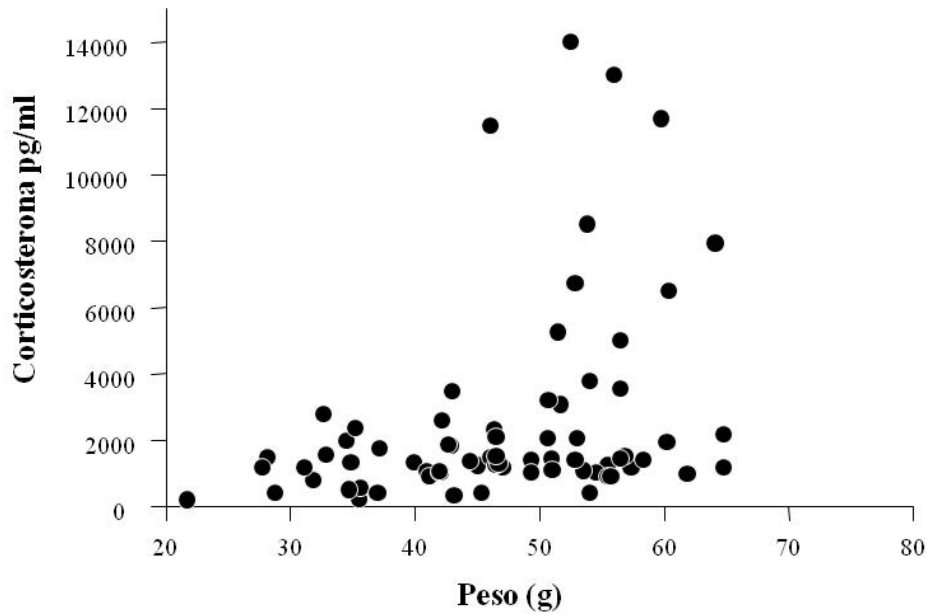


La concentración de corticosterona, expresada como desviación porcentual en las crías a las dos horas de nacidas no estuvo asociado con el sitio de implantación ( $KW= 3.932$ ,  $p= 0.1400$ ) como se muestra en la Gráfica 7.



**Gráfica 7.** No hubo diferencias significativas entre la concentración de corticosterona de las crías y la posición intrauterina, cada punto representa una cría. EC= extremo cervical, M= medio y EO= extremo ovárico.

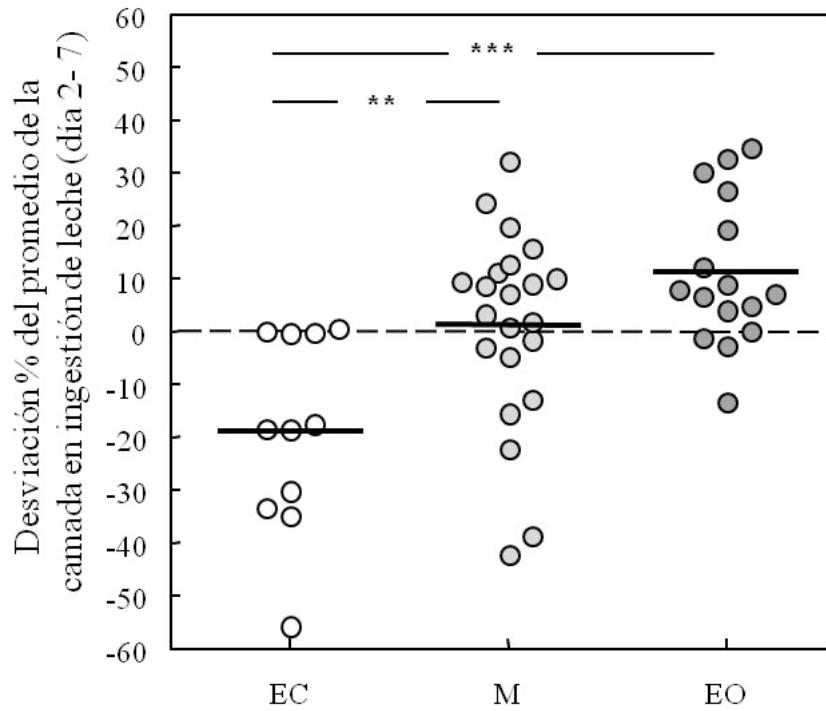
Sin embargo, considerando los valores absolutos de la concentración de corticosterona y peso de las crías, se encontró una correlación positiva. Las crías más pesadas al nacimiento presentan mayor concentración de corticosterona sérica ( $r= 0.3306$ ,  $p= 0.0049$ ) (Gráfica 8).



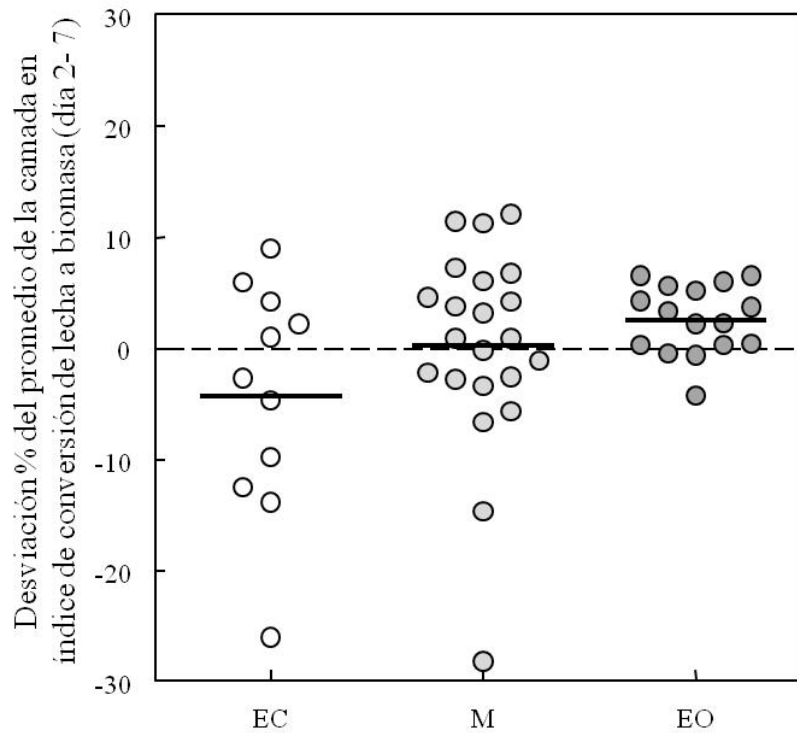
**Gráfica 8.** Correlación entre el peso al nacimiento y concentración sérica de testosterona a las dos horas de las crías al nacimiento. Cada punto representa una cría.

#### 12.1.4 Crecimiento y sobrevivencia de las crías al destete

Las 8 camadas del grupo 2 tuvieron 61 crías vivas al nacimiento, 10 murieron durante los primeros 7 días posnatales, siendo las más ligeras de la camada al momento de su muerte. Durante la primer semana de vida postnatal las crías implantadas en el extremo ovárico del cuerno uterino ingirieron una mayor cantidad de leche (g), a diferencia de las que se encontraron en el extremo cervical ( $F_{(2,48)}= 10.20$ ,  $p= 0.0002$ ,  $n= 49/8$  camadas) Gráfica 9. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el índice de conversión de leche a biomasa entre las crías del extremo ovárico, medio y en el extremo cervical ( $KW= 2.984$ ,  $p= 0.2250$ ,  $n= 49$ ) (Gráfica 10).

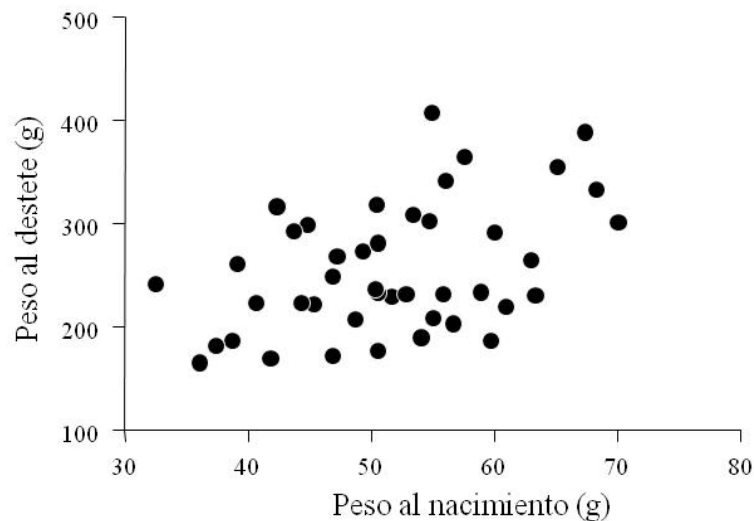


**Gráfica 9.** Desviación % de la ingesta de leche relacionado con el sitio de implantación. Cada punto representa a una cría. EC= extremo cervical, M= medio y EO= extremo ovárico.



**Gráfica 10.** Desviación % del índice de conversión de leche a biomasa de acuerdo al sitio de implantación. Cada punto representa a una cría. EC= extremo cervical, M= mitad y EO= extremo ovárico.

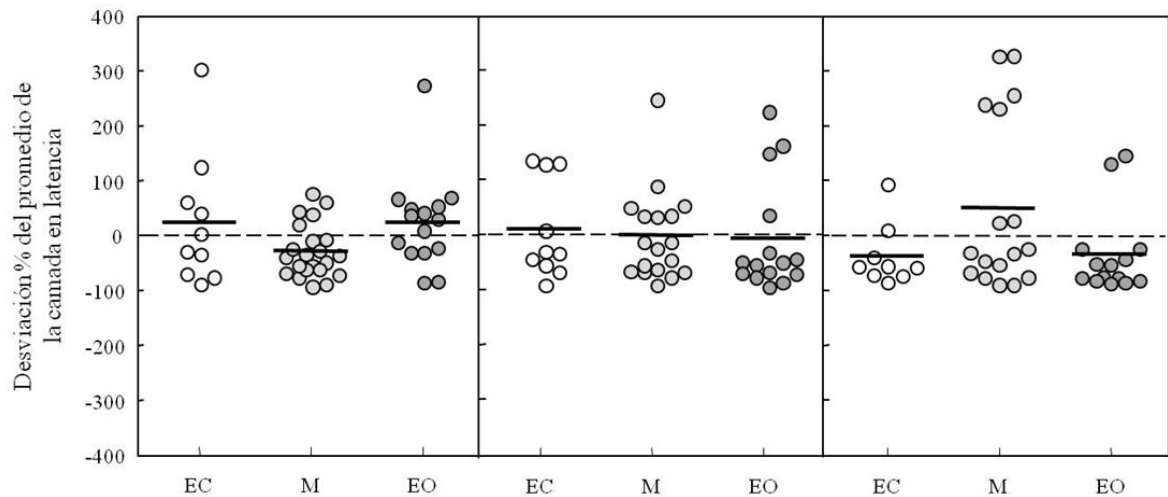
En el día 25 que se llevo a cabo el destete, 45 crías sobrevivieron con un peso promedio de 256.8 g. Mediante una correlación de Spearman se encontró que las crías más pesadas al nacimiento, fueron las crías más pesadas al destete ( $r= 0.3816$ ,  $p= 0.0116$ ) (Gráfica 11).



**Gráfica 10.** Correlación positiva entre el peso al nacimiento y el peso al destete, cada punto representa una cría.

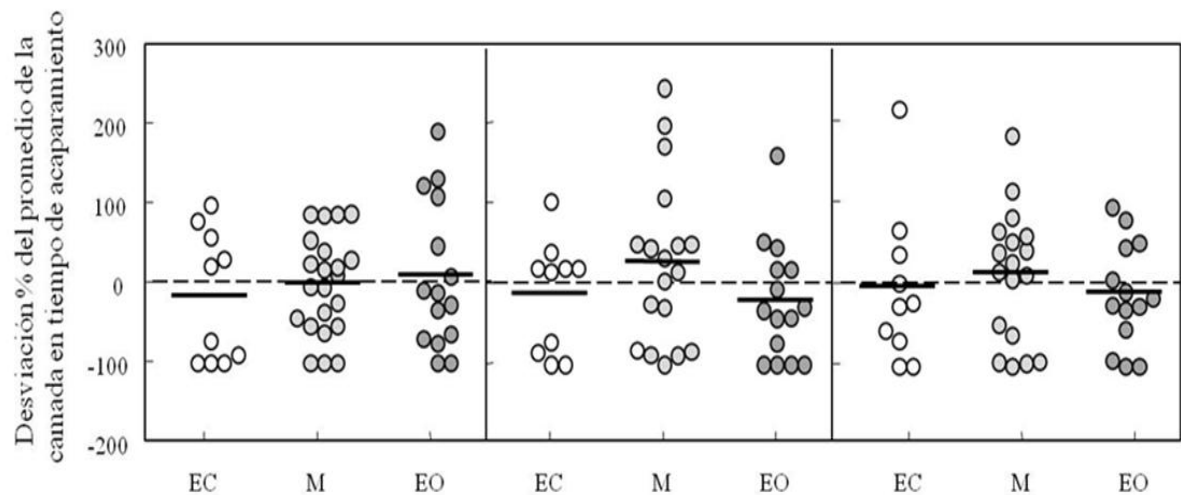
#### 12.1.5 Competencia por agua al destete

Durante los tres días de prueba (27, 37 y 47 posnatal) no hubo diferencias significativas en la latencia para llegar al recurso (vaso con agua), entre las crías implantadas en el extremo ovárico, medio y en el extremo cervical (día 27:  $KW= 3.932$ ,  $p= 0.1400$ ,  $n= 47$ ; día 37:  $KW= 1.069$ ,  $p= 0.5859$ ,  $n= 43$  y día 47:  $KW= 3.164$ ,  $p= 0.2055$ ,  $n= 40$ ) (Gráfica 11).



**Gráfica 11.** Desviación % de la latencia para llegar al recurso asociados con el sitio de implantación. Cada punto representa una cría. EC= extremo cervical, M= medio y EO= extremo ovárico.

El tiempo que las crías pasaron acaparando el recurso (vaso con agua) en los tres días de prueba, fue indistinto de la posición intrauterina (día 27:  $KW= 0.4418$ ,  $p= 0.8018$ ,  $n= 47$ ; día 37:  $F(2,42) = 1.445$ ,  $p= 0.2478$ ,  $n= 43$  y día 47:  $F(2,41) = 1.3861$ ,  $p= 0.6823$ ,  $n= 40$ ) (Gráfica 12).

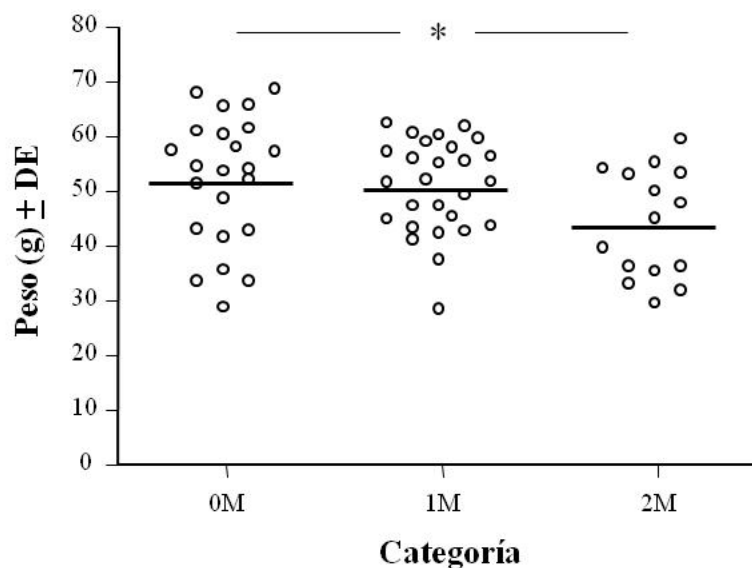


**Gráfica 12.** Desviación % del promedio del tiempo de acaparamiento de acuerdo al sitio de implantación. Cada punto representa una cría. EC= Extremo cervical, M= medio y EO= Extremo ovárico

### 12.2 Características de las crías asociadas al sexo de los hermanos adyacentes

Las conejas de ambos grupos parieron 18 camadas con un total de 132 crías vivas, 65 crías fueron hembras y 67 machos, es decir fue una proporción 1:1. Se encontró que casi la mitad de las crías hembras fueron gestadas entre un macho y una hembra que corresponde a la categoría 1M, (41.5%, n=27); con un porcentaje ligeramente menor fueron gestadas entre hembras, que corresponde a la categoría 0M (35.3%, n=23) y con el porcentaje más bajo fueron gestadas entre machos, que corresponde a la categoría 2M (23 %, n=15).

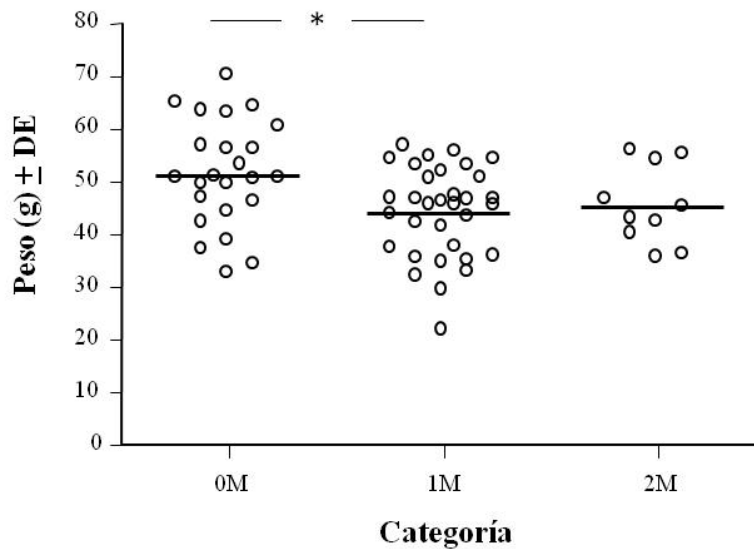
Con respecto al peso de las crías hembras, se encontró que en promedio las más pesadas al nacimiento (51.4 g) fueron aquellas que se gestaron adyacentes a hembras, o adyacentes a un macho y una hembra (50.1 g), mientras que las más ligeras (43.4 g) se desarrollaron entre machos ( $F_{(2,64)} = 3.154, p = 0.0496$ ) como se muestra en la Gráfica 13.



**Gráfica 13.** Peso de las crías hembras al nacimiento de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes, cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre machos. \*  $p < 0.05$ .

En lo que respecta a las crías macho, al nacimiento se encontró que al igual que las hembras, casi el 50% de los machos fueron gestados entre un macho y una hembra, (49.2%, n=33), o gestados entre hembras (35.8%, n=24) y con menor porcentaje entre machos, (14.9%, n=10). Se encontró un patrón similar al de las hembras en el peso al nacimiento con respecto a la posición intrauterina. Los más pesados fueron aquellos que estuvieron adyacentes a hembras (51.2 g) y los más ligeros aquellos que estuvieron

adyacentes a un macho y una hembra (43.9 g) o entre machos (45.3g) ( $F_{(2,66)} = 4.710$ ,  $p = 0.0123$ ) como se muestra en la Gráfica 14.



**Gráfica 14.** Peso de las crías macho al nacimiento de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes, cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre machos. \*  $p < 0.05$ .

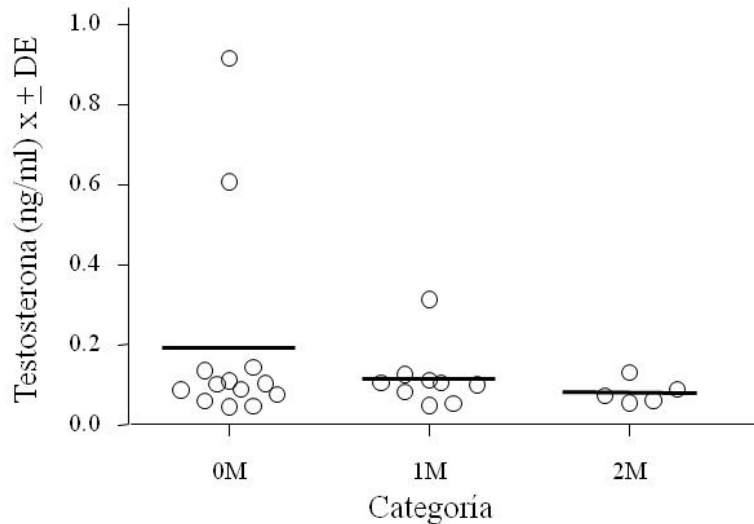
### 12.2.1 Relación entre sitio de implantación y sobrevivencia al nacimiento

De las 143 crías de las 18 camadas, el 92.3% sobrevivió y el 7.7% murió. La mortalidad ocurrió en igual porcentaje en la posición cercana al ovario (92.7%), media (91.8%) y en la cercana al cérvix (92.7%). Por otra parte, de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes un número igual de crías muere en las tres categorías (0M=3, 1M= 4 y 2M=4).

### 12.2.2 Concentración de testosterona en las crías a las dos horas de nacidas y su relación con el sexo de los hermanos adyacentes

En las 10 camadas del grupo 1, se encontró el mismo patrón general de distribución del sexo de los hermanos adyacentes, en el que las crías hembra en un menor porcentaje fueron gestadas entre machos (18.5%,  $n=5$ ). Sin embargo en este grupo, casi la mitad de las crías hembras fueron gestadas entre hembras (48.1%,  $n=13$ ), a diferencia del patrón general de distribución del sexo de los hermanos adyacentes, en el que el mayor porcentaje fueron gestadas entre un macho y una hembra. El porcentaje intermedio en este grupo fueron gestadas entre un macho y una hembra, (33.3%,  $n=9$ ), no así para el

patrón general, en el que fueron gestadas entre hembras. En las crías hembras, independientemente de la posición intrauterina la concentración de testosterona sérica fue indistinta del sexo de los hermanos adyacentes siendo de 0.1938 ng/ml en las 0M, 0.1165 ng/ml en las 1M y de 0.08176 ng/ml en las 2M ( $F_{(2,26)} = 0.7988$ ,  $p = 0.4615$ ), como se muestra en la Gráfica 15.

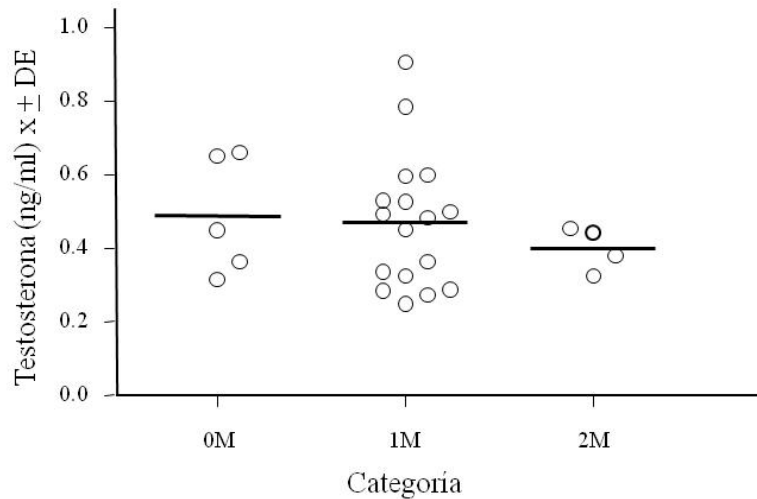


**Gráfica 15.** Concentración de testosterona sérica en crías hembras a las dos horas de nacidas y su relación con el sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre dos machos.

En las crías macho, se encontró casi el mismo patrón general de distribución del sexo de los hermanos adyacentes. En donde el mayor porcentaje fue gestado entre un macho y una hembra (65.3%,  $n = 17$ ) y casi en igual porcentaje fueron gestados entre hembras (19.2%,  $n=5$ ) y entre machos (15.3%,  $n=4$ )

Al igual que las hembras, la concentración de testosterona no estuvo relacionada con el sexo de los hermanos adyacentes, siendo de 0.4710 ng/ml en los 0M, 0.4890 ng/ml en los 1M, 0.4005 ng/ml y en los 2M ( $F_{(2,26)} = 0.7988$ ,  $p = 0.4615$ ) como se muestra en la Gráfica 16. Sin embargo, en promedio los machos tuvieron significativamente mayor concentración de testosterona que las hembras,  $0.1467 \pm 0.1809$  y  $0.4846 \pm 0.1645$  ng/ml respectivamente ( $U = 90.00$ ,  $p < 0.0001$ ).

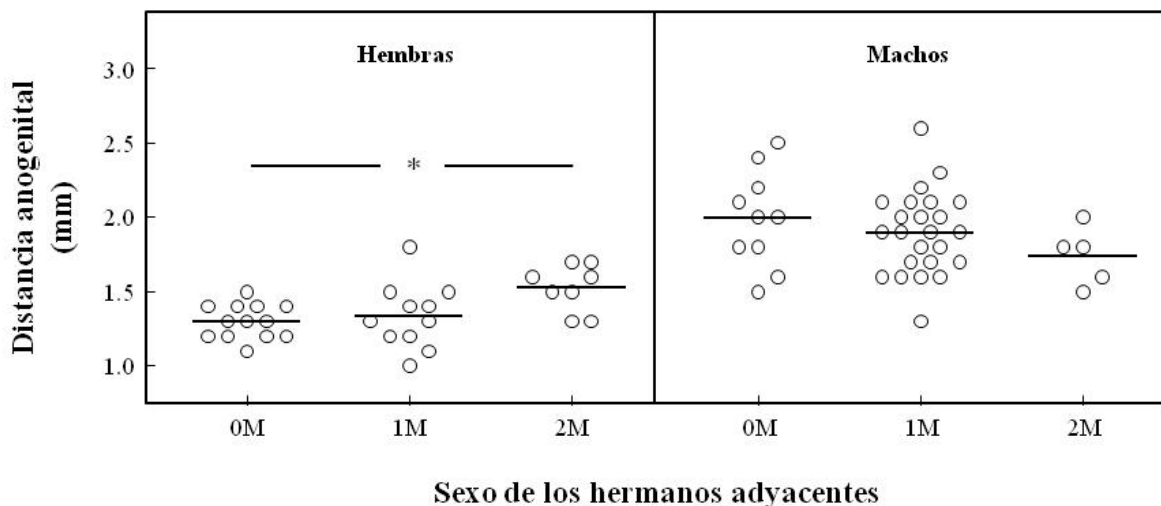




**Gráfica 16.** Concentración de testosterona sérica en machos de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre dos machos.

### 12.2.3 Distancia anogenital y relación con el sexo de los hermanos adyacentes

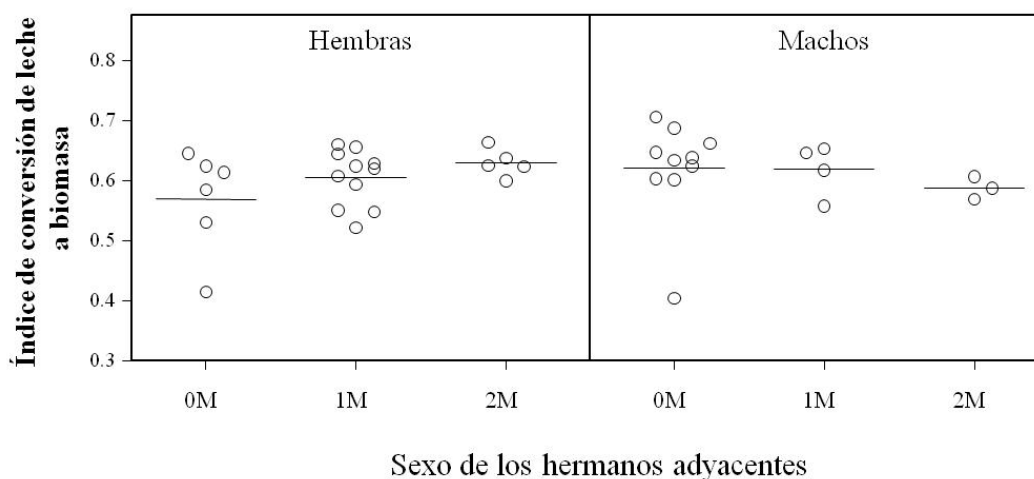
La distancia anogenital fue significativamente mayor en los machos (1.9 mm) que en las hembras (1.3 mm) ( $t= 9.040, p= 0.0001$ ). Sin embargo, en las hembras, la distancia anogenital fue significativamente mayor en las 2M (1.5 mm), que en las 0M (1.3 mm) ( $KW= 7.697, p= 0.0213, n= 32$ ). En los machos no hubo diferencias significativas en la distancia anogenital con respecto a la posición intrauterina ( $F_{(2,38)}= 1.304, p= 0.2839, n= 39$ ) (Gráfica 17).



**Gráfica 17.** Distancia anogenital y sexo de los hermanos adyacentes en hembras y machos al nacimiento. Cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre dos machos.

### 12.2.4 Relación entre sexo de los hermanos adyacentes y crecimiento

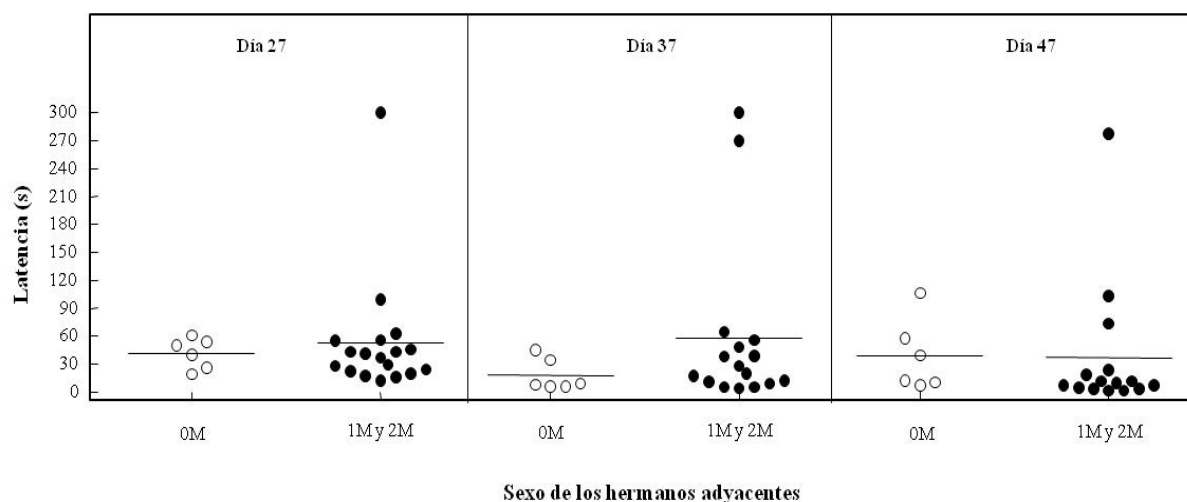
No hubo diferencias significativas en el índice de conversión de leche a biomasa en machos y en hembras en relación al sexo de los hermanos adyacentes (hembras:  $F(2,23)= 1.748, p= 0.1985$  y machos:  $KW= 4.267, p= 1180.4$ ) Grafica 18.



**Gráfica 18.** Índice de conversión de leche a biomasa y sexo de los hermanos adyacentes en hembras y machos al nacimiento. Cada punto representa una cría. 0M= entre hembras, 1M= entre un macho y una hembra y 2M= entre dos machos.

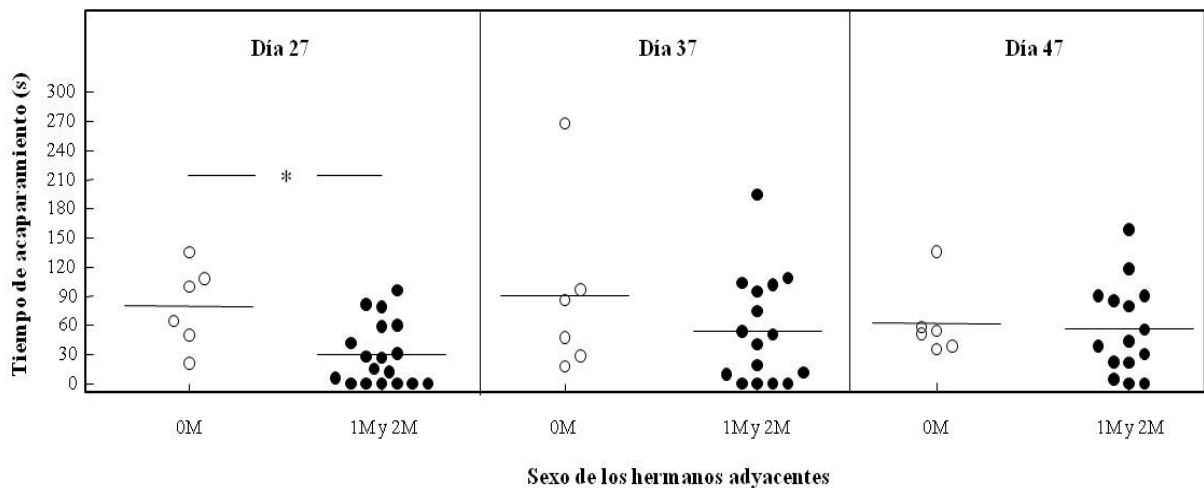
### 12.2.5 Relación entre sexo de los hermanos adyacente y competencia por agua

En las hembras, no se encontró diferencias significativas en la latencia para llegar al recurso (vaso con agua) durante los tres días de competencia en relación al sexo de los hermanos adyacentes (día 27:  $t= 0.4093, p= 0.6863$ ; día 37:  $U= 32.50, p= 0.2685$ ; día 47:  $U= 28.00, p= 0.1984$ ) (Gráfica 18).



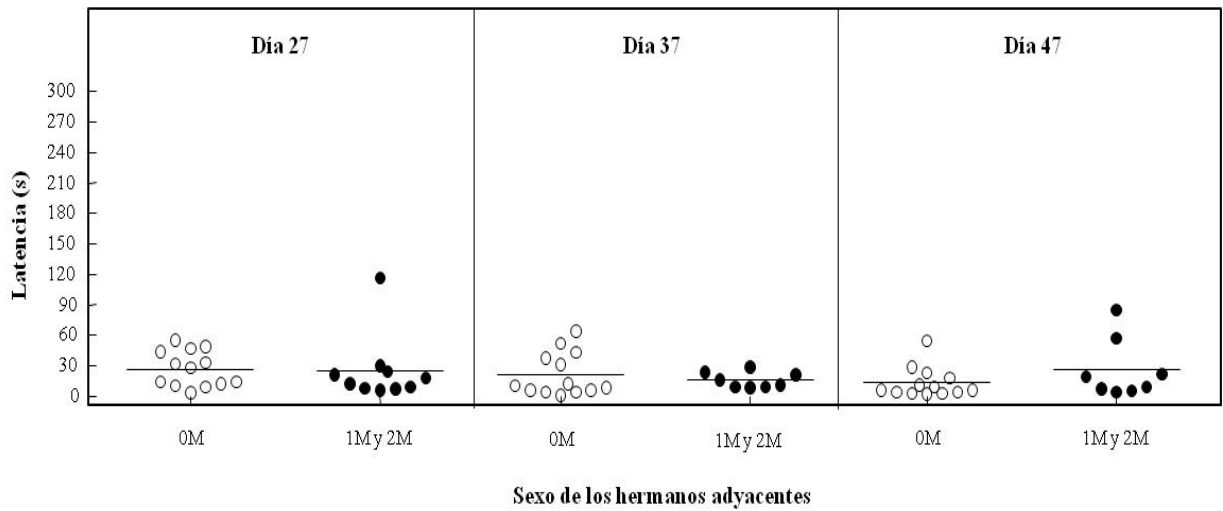
**Gráfica 19.** Latencia promedio de las crías hembras para llegar al recurso en los tres días de prueba de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre dos hembras; 1M= entre un macho y una hembra; 2M= entre dos machos.

Para el tiempo de acaparamiento, solo durante el primer día de competencia (día 27 posnatal) las hembras que se gestaron adyacentes a dos hembras presentan mayor tiempo de acaparamiento en el recurso (vaso de agua), en comparación con las que se gestaron adyacentes a un macho o a dos machos ( $U= 17.00, p= 0.0150$ ). Sin embargo, en los siguientes días 37 y 47 posnatal no se encontraron diferencias significativas con respecto al sexo de los hermanos adyacentes (37:  $U= 36.00, p= 0.3966$  y día 47:  $U= 38.50, p= 0.6403$ ) (Gráfica 20.).



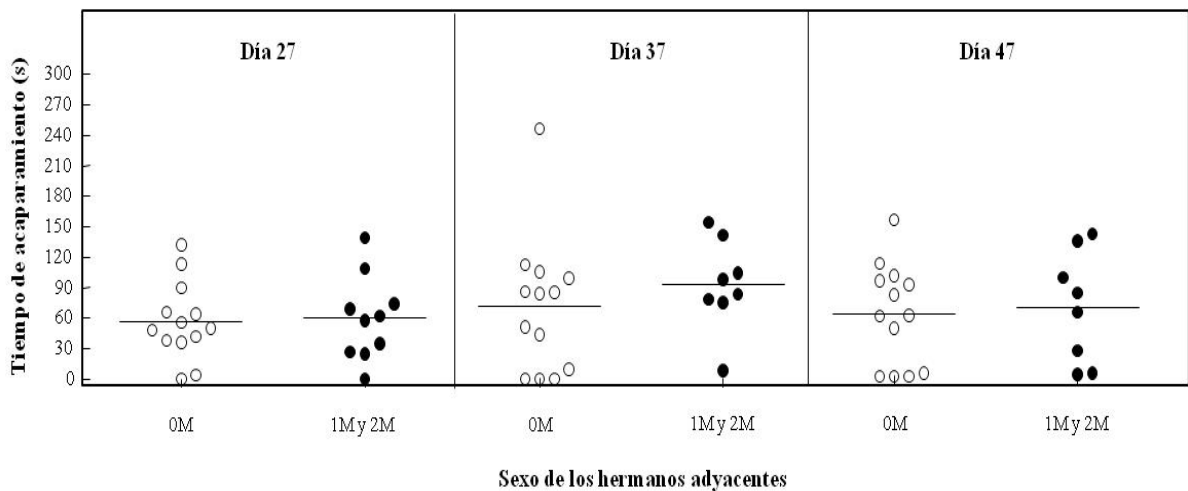
**Gráfica 20.** Tiempo de acaparamiento promedio en las hembras durante los tres días de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre dos hembras; 1M= entre un macho y una hembra; 2M= entre dos machos.

En los machos, tampoco se encontraron diferencias significativas en la latencia para llegar al recurso (vaso con agua) durante los tres días de competencia con relación al sexo de los hermanos adyacentes (día 27:  $U= 46.00, p= 0.2509$ ; día 37:  $U= 47.50, p= 0.7718$ ; día 47:  $U= 34.50, p= 0.2172$ ) (Gráfica 21).



**Gráfica 21.** Latencia promedio en los machos para llegar al recurso en los tres días de prueba de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre dos hembras; 1M= entre un macho y una hembra; 2M= entre dos machos.

En el tiempo de acaparamiento, no se encontraron diferencias significativas durante los tres días (día 27, 37 y 47 posnatal) en los machos que se gestaron adyacentes a dos hembras y los que se gestan adyacentes a un macho y a dos machos (día 27:  $t= 0.1781$ ,  $p= 0.8604$ ; día 37:  $U= 40.00$ ,  $p= 0.4043$  y día 47:  $t= 0.2942$ ,  $p= 0.7718$ ) (Gráfica 22).



**Gráfica 22.** Tiempo promedio de acaparamiento del recurso en los machos durante los tres días de prueba, de acuerdo al sexo de los hermanos adyacentes. Cada punto representa una cría. 0M= entre dos hembras; 1M= entre un macho y una hembra; 2M= entre dos machos.

## 14. Discusión

Con nuestros resultados corroboramos lo que ya ha sido reportado en el ratón y la rata, que el sitio de implantación está asociado con el peso de las crías y placentas (McLaren y Michie 1960, Even y cols. 1992). Los fetos y placentas más pesados se localizaron en el extremo ovárico del cuerno uterino, se ha propuesto que en esta región del cuerno uterino hay un mayor flujo sanguíneo, así como por mayor número de vasos sanguíneos (Rosahn y Greene en 1936; Duncan 1969, y Argente y cols. en el 2003). La inyección de colorante en el corazón de la ratona gestante, disemina primero en los extremos del cuerno uterino (Vom Saal y Dhar 1992). Constatamos, que la inyección de un colorante vegetal en el corazón de una coneja gestante tiñó primero el extremo ovárico del cuerno uterino. Además de la irrigación, es posible que una mayor disponibilidad de espacio en tal sitio de implantación favorezca el desarrollo fetal y placentar.

Sin embargo, a pesar de que las placentas más pesadas se encuentran en sitios favorecidos por una mayor irrigación sanguínea, las placentas más ligeras resultaron ser más eficientes. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado en el ratón (Coan y cols. 2009) y en el conejo (Argente y cols. 2003). La eficiencia puede ser el resultado de adaptaciones morfológicas o funcionales de la placenta. Ejemplo de modificaciones morfológicas de la placenta como una mayor superficie de contacto con el útero ha sido reportado en rata, marmotas y cerdos (Coan y cols 2008, Vallet y Freking 2007, tomado de Fowden y cols. 2009). Adaptaciones funcionales, como es la eficiencia en el transporte de sustrato, como ha sido reportado en la oveja (Owens y cols. 1987, 1989 tomado de Fowden y cols. 2009), además de incremento en los transportadores de sustrato (Regnault y cols. 2005, Jones y cols. 2007 tomado de Fowden y cols. 2009).

La ovariectomía no afectó el peso ni el número de crías al nacimiento (Hafez 1964, Bánszegi y cols. 2009). Sin embargo sí el crecimiento postnatal. Durante los días 2 al 25 posnatal, hubo una disminución en el peso corporal de las crías de conejas ovariectomizadas que corresponde a los días 13 al 23 de lactancia de las conejas nodrizas, posiblemente durante este periodo hubo una disminución en la producción de leche en las conejas nodriza, ya que estas fueron apareadas entre uno y dos días antes que las conejas que aportaron las camadas para el estudio. No obstante, para el día 25 posnatal las crías recuperan su peso llegando a igualarse con el de las crías de conejas

intactas. Además, que en este momento las crías son menos dependientes de la leche materna y más dependientes del alimento sólido (Hudson et al 1996)

En el conejo, el crecimiento durante la primera semana posnatal está determinado completamente por la ingestión de leche. La leche ingerida está destinada para la masa corporal. Corroboramos que las crías más pesadas ingirieron más leche resultando así en mayor peso al destete (Bautista y cols. 2008).

La sobrevivencia al destete fue menor a lo reportado por Drummond y colaboradores en el 2000, presentándose la mayor mortalidad durante la primera semana posnatal. Lo cual sugiere que la adopción de la camada por las conejas nodrizas no fue exitoso resultando en mortalidad de las crías.

La concentración de corticosterona sérica a las dos horas de nacimiento fue menor a lo reportado por Mulay y cols. (1973). Contrario a nuestras predicciones y a lo reportado en el cerdo (Klemcke y cols. 1993), las crías más pesadas fueron las que presentaron mayor concentración de corticosterona, lo que indica que las crías ligeras no muestran indicio de estrés fetal. Posiblemente esto se deba a que las crías ligeras presenten algún grado de inmadurez en la glándula adrenal y por eso no estén secretando corticosterona en concentración adecuadas. En humanos se ha reportado que los bebés prematuros con bajo peso al nacimiento (menos de 1000 g) tienen bajas concentraciones de cortisol sérico, como resultado de una inmadurez adrenocortical (Ng 2000). Sin embargo, en un estudio realizado por Maqueda (2002) en gazapos a los 8 días posnatal, también encuentra que las crías más pesadas son las que presentan mayor concentración de corticosterona.

En relación al sexo de los hermanos adyacentes, a diferencia de lo que se había reportado en el cerdo y en el conejo (Rohde y cols. 1990, Bánszegi y cols 2009), nuestros resultados muestran que las crías 0M fueron más pesadas en comparación de las crías de las otras categorías. Esta diferencia, podría deberse a que varias de las crías 0M se encontraban en el extremo ovárico.

En cuanto a la concentración de testosterona, por una parte, los machos presentaron una mayor concentración que las hembras, esto fue similar a lo que se ha reportado en otras especies. Por otra parte, contrario a lo que esperábamos y a lo que se había reportado en otras especies como el ratón y la rata (vom Saal 1989, Clarck y cols. 1992) las hembras 0M tuvieron mayor concentración de testosterona. Posiblemente pudo deberse a que la medición de la hormona se realizó después del periodo crítico de diferenciación sexual, en donde ya no existe un efecto directo de los hermanos

adyacentes. De tal forma que en posteriores estudios en el conejo, se sugiere tomar muestra de sangre para la cuantificación de testosterona durante la etapa fetal. Para el caso de los machos, ocurrió algo similar a las hembras. A pesar de que las hembras 2M no mostraron mayor concentración de testosterona, si presentaron mayor distancia anogenital, corroborando lo que ya se había encontrado en hembras al nacimiento (Bánszegi y cols. 2009). Esto demuestra que si existió un efecto de masculinización en las hembras que se encontraron entre dos machos.

## **15. Conclusiones**

Las diferencias en el peso al nacimiento y el desarrollo posnatal están asociados al sitio de implantación, más que por el sexo de los hermanos adyacentes.

Las crías más ligeras gestadas en la posición media del cuerno no presentan estrés, teniendo como indicador la concentración de corticosterona.

La concentración de testosterona al nacimiento no refleja la influencia de la presencia de machos adyacentes durante el desarrollo fetal.

La mayor distancia anogenital al nacimiento en las hembras 2M, muestra que si hay un efecto de la testosterona producida por los machos adyacentes durante el desarrollo fetal.

La conducta no está determinada por los dos factores de ambiente intrauterino, probablemente sea el resultado de la “personalidad” de cada individuo.



## 15. Referencias

Argente MJ, M. A. Santacreu, A. Climent, A. Blasco. 2003. Relationships between uterine and fetal traits in rabbits selected on uterine capacity. *J. Anim. Sci.* 81:1265- 1273.

**Arteaga L**, Bautista A, Martínez-Gómez M, Nicolás L, Hudson R. .Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiol Behav* 94:510-515. 2008.

Bautista A, Mendoza-Degante M, Coureaud G, Martínez- Gómez M, Hudson R. 2005. Scramble competition in newborn domestic rabbits for an usually restricted milk supply. *Anim Behav* 10:1011-1021.

Bautista A, García- Torres E, Martínez- Gómez M, Hudson R. 2008. Do newborn domestic rabbits *Oryctolagus cuniculus* compete for thermally advantageous positions in the litter huddle? *Behav Ecol Sociobiol.* 62: 331- 339.

Bánszegi O, Altbacker V, Bilkó, A. 2009. Intrauterine position influences anatomy and behaviour in domestic rabbit. *Physiol. Behav.* 98: 259-262.

Bakker J y Baum MJ. 2008. Role for estradiol in female-typical brain and behaviour sexual differentiation. *Front Neuroendocrinol.* 29: 1-16.

Berger M, Chazaud J, Jean-Faucher Ch, De Turckheim M, Veyssiere y Jean Cl. 1976. Developmental patterns of plasma and testicular testosterone in rabbits from to 90 days of Age. *Biology of Reproduction.* 15, 561-564.

Block EM Lew and Klein M. 1971. Studies on the inhibition of fetal androgen formation: testosterone synthesis by fetal and newborn mouse testes in vitro. *Endocrinology.* 88: 41.

Chohen-Bendahan Celina CC, Buitelaar JK, van Goozen Stephanie HM, Orlebeke JF y Cohen-Kettenis PT. 2005. Is there an effect of prenatal testosterone on aggression and other behavioral traits? A study comparing same-sex and opposite-sex twin girls. *Hormones and Behavior* 47: 230-237.

Clark MM, Malenfant SA, Winter DA, Galef BG. 1989. Fetal uterine position affects copulation and scent marking by adult gerbils. *Physiol. Behav.* 47:301–305.

Clark MM, Crews D y Galef BG. 1991. Concentrations of sex steroid hormones in pregnant and fetal Mongolian gerbils. *Physiol. Behav.* 49: 239-243.

Clark MM, Vom Saal FS y Galef BG. 1992. Intrauterine positions and testosterone levels of adult male gerbils are correlated. *Physiol. Behav.* 51: 957-960.

Clark MM, Tucker L y Galef BG. 1992a. Stud males and dud males: intrauterine position effects on the success of male gerbils. *Animal Behaviour*. 43: 215–221.

Clark MM, Karpiuk P y Galef BG. 1993. Hormonally mediated inheritance of acquired characteristics in Mongolian gerbils. *Nature*. 364: 712.

Coan PM, Angiolini E, Sandovici I, Burton GJ, Constancia M y Fowden AL. 2008. Adaptations in placental nutrient transfer capacity to meet fetal growth demands depend on placental size in mice. *J. Physiol*. 18: 4567-4576.

Duncan SLB. 1969. The partition of uterine blood flow in the pregnant rabbit. *J Physiol*. 204: 421-433.

Drummond H, Vásquez E, Sánchez-Colón S, Martínez-Gómez M, Hudson R. 2000. Competition for milk in the domestic rabbit: survivors benefit from littermate deaths. *Ethology*. 106: 511-26.

Even, MD, Dhar, M. and vom Saal FS. 1992. Transport of steroids between fetuses via amniotic fluid in relation to the intrauterine position phenomenon in rats. *J. Reprod. Fertil*. 96:709-716.

Feldman S and Bloch E. 1978. Developmental pattern of testosterone synthesis by fetal rat testes in response to luteinizing hormone. *Endocrinology*. 102: 999.

Fowden AL, Sferruzzi-Perri AN, Coan PM, Constancia M y Burton GJ. 2009. Placental efficiency and adaptation: endocrine regulation. *J Physiol*. 587.14: 3459-3472.

Forger NG, Galef BG y Clark MM. 1996. Intrauterine position affects motoneuron number and muscle size in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research* 735: 119-124.

Hafez ESE (1964) Effects of overcrowding in utero on implantation and fetal development in rabbit. *J Exp Zool* 156:269-288.

Hirose T. 1977. Cortisol and corticosterone productions of isolated adrenal cell in neonatal rabbits. *Acta Endocrinol* 84: 349-356.

Houtsmuller EJ, Jong FH, Rowland DL, Slob AK. 1993. Plasma testosterone in fetal rats and their mothers on day 19 of gestation. *Physiol. Behav*. 57: 495-499.

Hudson R, Bilkó Á, Albäcker V (1996) Nursing, weaning and the development of independent feeding in the rabbit. *Z Säugetierkunde* 61:39-48

Hudson R, Cruz Y, Lucio R, Ninomiya J, Martínez Gómez M (1998) Temporal and behavioral patterning of parturition in rabbits an rats *Physiol Behav* 66:599-604

Klemcke HG, Lunstra DD, Brown-Borg HM, Borg KE, Christenson RK. 1993. Association between low birth weight and increased adrenocortical function in neonatal pigs. *J. Anim. Sci.* 71: 1010- 1018.

Krohmer RW y Baum MJ. 1989. Effect of sex, intrauterine position and androgen manipulation on the development of brain aromatase activity in fetal ferrets. *Journal of Neuroendocrinology.* 1:265-271.

Louton T, Domarus HV, Hartmann P. 1988. The position effect in mice on day 19. *Experimental Teratology*

Lummaa V, Pettay JE y Russell AF. 2007. Male twins reduce fitness of female co-twins in humans. *PNAS.* 104: 10915-10920.

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

Martínez-Gómez M, Juárez M, Distel H, Hudson R. 2004. Overlapping litters and reproductive performance in the domestic rabbit. *Physiol. Behav.* 82: 629-636.

Martínez-Gómez M, Cruz Y, Hudson R. 2002. Conducta maternal. En: Escobar C y Aguilar RR (Eds) *Motivación y Conducta: Sus bases Biológicas.* El Manual Moderno, México DF pp 299-317.

McLaren A and Michie D. 1960. Control of pre-natal growth in mammals. *Nature.* 187: 363 – 365.

Muciño E, Bautista A, Jiménez I, Martínez-Gómez M, Hudson R. 2008. Differential Development of body equilibrium among littermates in the newborn rabbit. *Develop Psychobiol.* 51:24-33.

Mulay S, Giannopoulos G y Solomon S. 1973. Corticosteroid levels in the mother and fetus of the rabbit during gestation. *Endo.* 93:6.

Neroli AN y Neville WB. 1978. Fetal and placental weight relationships in the albino rat near term. *Embryonic Development.*

Perry JS y Rowell JG. 1969. Variations in foetal weight and vascular supply along the uterine horn of the pig. *J. Reprod. Fert.* 19: 527-534.

Poore KR and Fowden AL. 2003. The effect of birth weight on hypothalamo-pituitary-adrenal axis function in juvenile and adult pigs. *J. Physiol.* 547.1: 107-116.

Poulsen P y Vaag A. 2006. The intrauterine environment as reflected by birth size and twin and zygosity status influences insulin action and intracellular glucose metabolism in age- or time- dependent manner. *Diabetes*, 55: 1819-1825.

Rohde Parfet KA, Lamberson WR, Rieke AR, Cantley TC, Ganjam VK, vom Saal FS and Day BN. 1990. Intrauterine position effects in male and female swine: subsequent survivability, growth rate, morphology and semen characteristics.. *J. Anim. Sci.* 68: 179-185.

Rödel H, Bautista A, García-Torres E, Martínez-Gómez M, Hudson R. 2008. Why do heavy littermates grow better than lighter ones? A study in wild and domestic European rabbits. *Physiol and Behav.*95: 441-448.

Roshan PD, Greene HSN. 1936. The influence of intrauterine factors on the fetal weight of rabbits. *J Exp Med* 63: 901- 921.

Town SC, Putman CT, Turchinsky NJ, Dixon WT y Foxcroft GR. 2004. Number of conceptuses in utero affects porcine fetal muscle development. *Reproduction* 128: 443-454.

Veyssiere G, Berger M, Jean-Faucher, De Turckheim M y Jean C. 1976. Levels of testosterone in the plasma, gonads, and adrenals during fetal development of the rabbit. *Endo.* 99:5.

vom Saal FS, Bronson F. 1980. Sexual characteristics of adult female mice are correlated with their blood testosterone levels during prenatal development. *Science* 208:597-599.

vom Saal FS.1981. Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *J. Reprod. Fert.* 62: 633-650.

vom Saal FS.1982. Intrauterine positioning of male and female fetuses influences prenatal hormone titers and adult behavior. En: *Proceedings of the Fifth World Congress of Sexology, Exerpta Medica, Amsterdam.*

vom Saal FS. Sexual.1989. Differentiation in litter-bearing mammals: influence of sex of adjacent fetuses in utero. *J. Anim sci.* 67:1824-184.

Vom Saal FS y Dhar MG. 1992. Blood flow in the uterine loop artery and lopp vein is bidirectional in the mouse: implications for transport of steroids between fetuses. *Physiology and Behavior.* 52: 163-171.

Wise T y Christenson RK. 1992. Relationship of fetal position within the uterus to fetal weight placental weight, testosterone, estrogens, and thymosin beta 4 concentrations at 70 and 104 days of gestation in swine. *J Anim Sci.* 70: 2787-2793.

Wise T, Roberts A J, and Christenson R K. 1997. Relationships of Light and Heavy Fetuses to Uterine Position, Placental Weight, Gestational Age, and Fetal Cholesterol Concentrations. *J. Anim. Sci.* 75:2197–2207.

Wilson ME, Biensen NJ y Ford SP. 1999. Novel insight into the control of litter size in pigs, using placental efficiency as a selection tool. *J. Anim. Sci.* 77:1654-1658.

Zuloaga DG, Puts DA, Jordan CL y Breedlove SM. 2008. The role of androgen receptors in the masculinization of brain and behavior: what we've learned from the testicular feminization mutation. *Horm. Behav.* 53: 613-626.