



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del aislamiento socio-materno y papel de los estímulos táctiles durante el período postnatal predestete sobre la conducta copulatoria y los parámetros seminales de la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carlos Edmundo Aguilar Pérez

Co-directores

Dr. Angel I. Melo Salazar

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Tlaxcala, Tlax.

Febrero, 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del aislamiento socio-materno y papel de los estímulos táctiles durante el período postnatal predestete sobre la conducta copulatoria y los parámetros seminales de la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carlos Edmundo Aguilar Pérez

Co-directores

Dr. Angel I. Melo Salazar

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Tlaxcala, Tlax.

Febrero, 2015

El presente trabajo de tesis fue realizado bajo la codirección de los Drs. Angel Ismael Melo Salazar y Rosa Angélica Lucio Lucio. Así como la tutoría de Dra. Adriana Margarita Morales Ojal, Dr. Rene Zempoalteca Ramírez y Dr. Armando Ferreira Nuño. El trabajo experimental se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala, ubicado en Ixtacuixtla, Tlaxcala. Y en el Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Autónoma de México) ubicado en Tlaxcala, Tlaxcala.

Esta investigación se llevó a cabo dentro del programa de Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Dicho programa se imparte en las instalaciones del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta y está registrado en el Padrón Nacional de Posgrados del Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología.

El proyecto fue parcialmente financiado por; CACyPI-UATx-2014, #UATLX-CA175 Biología de la Reproducción, UATx; CONACYT project # 156413 to Angel I. Melo. El autor de la presente tesis recibió beca de maestría CONACyT, con el número de registro #277841 (CEAP).



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado

Maestría en Ciencias Biológicas



POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que Carlos Edmundo Aguilar Pérez realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es “Efecto del aislamiento socio-materno y papel de los estímulos táctiles durante el periodo postnatal predestete sobre la conducta copulatoria y los parámetros seminales de la rata macho”.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., DICIEMBRE 20 DE 2014

DR. ANGEL ISMAEL MELO SALAZAR

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ

DRA. ADRIANA MORALES OTAL

DR. ARMANDO FERREIRA NUNO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



AGRADECIMIENTOS

Al posgrado en ciencias Biológicas, del Centro Tlaxcala Biologías de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. A CONACyT por haber otorgado la beca #277841 (CEAP).

A mis codirectores de tesis Dr. Angel Ismael Melo Salazar y Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio, por toda su confianza y paciencia para que se realizará el presente proyecto. Sus conocimientos, sus orientaciones, la manera de trabajar, la persistencia, paciencia y motivación han sido fundamentales para mi formación.

A mis tutores Dra. Adriana Margarita Morales Ota, Dr. Rene Zempoalteca Ramírez y Dr. Armando Ferreira Nuño, por su revisión y sugerencias para la mejora de esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio por la convivencia diaria, y compartirme sus conocimientos y principalmente por el apoyo durante la Crianza Artificial.

A mi novia Karla por su paciencia, comprensión y apoyo moral en todo momento. A mis amigos que siempre me apoyaron incondicionalmente para que esta tesis se concluyera, especialmente a Valentín, Sandra y Alberto.

A todos ellos mi infinita gratitud

Dedico esta tesis a mi familia por
su apoyo incondicional y constante
en todo objetivo que me he planteado

“Muéstrate a ti mismo ante tu más profundo miedo;
después de eso, el miedo ya no tiene poder y eres libre”

JDM

RESUMEN

La separación materna y social durante el período postnatal pre-destete, deteriora el desarrollo de los individuos. Las ratas macho cuando son adultas presentan mayor agresividad e impulsividad y su respuesta al estrés está incrementada. Esa manipulación también incide en el desarrollo de células nerviosas, particularmente disminuye las ramificaciones dendríticas de las neuronas que constituyen al núcleo bulbocavernoso. Tal núcleo está involucrado en la expresión de los reflejos penianos porque participa en la contracción de los músculos estriados llamados bulboesponjosos. La contracción de estos músculos facilita la erección peniana y la expulsión seminal durante la eyaculación. Previamente encontramos que los machos sometidos a la separación maternal y social y criados mediante un sistema de crianza artificial presentaron cambios en su conducta copulatoria. No todos desplegaron conducta copulatoria y cuando lo hicieron sus latencias de monta e intromisión estaban incrementadas y muy pocos desplegaron el patrón motor de eyaculación. Considerando que los resultados fueron obtenidos de machos expuestos a cuatro pruebas copulatorias, en el presente trabajo duplicamos el número de pruebas y evaluamos los parámetros copulatorios. Más aún, incluimos machos CA que recibieron estimulación táctil perineal y otro grupo más con estimulación táctil corporal. Con ello, pretendíamos disminuir los efectos negativos de la separación materno-social pre-destete sobre la conducta copulatoria, agregamos también el análisis seminal. Consideramos distintas manipulaciones: ratas macho de 4 días de edad criadas por su madre (CM); machos con separación materno-social criados mediante de un sistema de crianza artificial (CA) hasta el día 22 post-natal; machos CA provistos de estímulos táctiles perineales 5 veces al día durante 90 seg (CA-Perineal) y machos CA provistos de estímulos táctiles corporales 5 veces al día durante 90 seg (CA-Corporal). La estimulación táctil simulando el lamido provisto por la madre se proveyó utilizando un pincel húmedo de pelo de camello. Después del destete, los machos fueron alojados en cajas colectivas dentro de un bioterio en condiciones estándar. A la edad de 90 días dieron inicio las pruebas copulatorias con hembras en estro, inducido mediante estradiol y progesterona. Los resultados mostraron que el porcentaje de machos CM y CA-Corporal que presentaron el patrón motor de eyaculación durante al menos las últimas 4 pruebas fue significativamente mayor que el porcentaje de machos CA y CA-Perineal (100% y 100% vs 0% y 25%, respectivamente, $p < 0.001$). Así mismo, las latencias de monta e

intromisión de los machos CM y CA-Perineal fue similar y fue disminuyendo conforme avanzaban las pruebas. Curiosamente, en última prueba copulatoria, las latencias de monta e intromisión de todos los machos experimentales aumentó. Los machos CA mostraron mayor latencia de monta en las pruebas 2, 3 y 4 respecto a los machos CM y en la prueba 6 respecto a todos los otros grupos experimentales ($p < 0.05$). La latencia de intromisión de los machos CA fue mayor en la prueba 4 respecto a la latencia de los CM y en la prueba 6 vs la latencia de los CM y CA-Corporal ($p < 0.05$). En la prueba 7 se observó mayor latencia de intromisión de los machos CA-Perineal respecto a los demás grupos experimentales ($p < 0.05$). El número de intromisiones de los machos CM y CA-Corporal en las pruebas 2 y 3 fue mayor respecto a los machos CA y CA-Perineal, y en la cuarta prueba copulatoria se registró mayor número de intromisiones de los machos CM respecto a los CA y CA-Perineal, y en la cuarta y quinta prueba mayor número de intromisiones de los machos CA-Corporal respecto a los CA ($p < 0.005$). Se obtuvieron los eyaculados de la última prueba copulatoria de todos los grupos experimentales excepto de los CA porque ninguno eyaculó. Se encontró que la cuenta espermática de los machos CM y CA-Corporal fue mayor vs la cuenta de machos CA-Perineal (40.95 ± 3.29 , 44.50 ± 7.20 vs 9.75 ± 3.25 respectivamente), además, la anchura de tapón seminal de los machos CM fue mayor respecto al de los machos CA-Corporal (5.80 ± 0.18 y 4.75 ± 0.36 , respectivamente). Estos resultados sugieren que el aislamiento materno temprano incide negativamente y de manera permanente sobre el desarrollo de la conducta copulatoria masculina. Además, los datos obtenidos del grupo CA-Perineal sugieren que los machos requieren, quizá, de la adición de estímulos corporales, y pone en duda la hipótesis de que los estímulos en el área perineal que recibe la cría macho de su madre influyen sobre el desarrollo de la conducta sexual.

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Interacciones Sociales.....	1
1.2 Conducta Copulatoria Masculina.....	4
1.3 Experiencia Temprana y Desarrollo de las Conductas Sociales.....	9
2. ANTECEDENTES.....	11
3. HIPÓTESIS.....	14
4. OBJETIVOS.....	15
4.1 Objetivo General.....	15
4.2. Objetivos Particulares.....	15
5. METODOLOGÍA.....	16
5.1 Animales.....	16
5.2 Diseño Experimental.....	16
5.3 Crianza Artificial.....	16
5.4 Grupos Experimentales.....	17
5.5 Preparación de la Leche Artificial.....	18
5.6 Ovariectomías e Inducción de Estro.....	18
5.7 Evaluación de la Conducta Copulatoria Masculina.....	19
5.8. Espermatobioscopía Indirecta en la Octava Prueba Copulatoria.....	19
5.9 Análisis Estadístico.....	20
6. RESULTADOS.....	21

6.1 Análisis de las Ocho Pruebas Copulatorias de los Machos Criados Maternalmente, Criados Artificialmente, Criados Artificialmente que Recibieron Estimulación Táctil Perineal o Corporal.....	21
6.2 Patrones Motores de Eyaculación.....	22
6.3 Parámetros Copulatorios.....	24
6.4 Espermatobioscopía Indirecta en la Octava Prueba Copulatoria.....	31
7. DISCUSIÓN.....	33
7.1 Crianza Artificial.....	33
7.2 Efecto de la Estimulación Táctil	38
8. CONCLUSIONES.....	41
9. PERSPECTIVAS.....	42
10. REFERENCIAS.....	43
11. ANEXOS.....	50

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Interacciones Sociales

Las interacciones sociales incluyen numerosas y diversas conductas que implican distintas formas de cooperación y conflicto (Nowak 2006). Por ejemplo, la vida en grupo y la crianza comunal de la prole son las formas de sociabilidad que surgen entre los individuos. Durante tales interacciones, los individuos proveen información mediante patrones conductuales y/o señales sensoriales (*e.g.*, visuales, auditivas u odoríferas) acerca de su edad, sexo, estatus social y condición reproductiva. Los individuos que proveen información son emisores; los que responden, receptores. Los individuos receptores procesan la información mediante los sistemas sensoriales específicos para cada señal. Por ejemplo, el animal emisor vocaliza (estímulos auditivos) o libera feromonas (estímulos odoríferos) y el animal receptor percibe dichas señales a través del sistema auditivo u olfatorio según corresponda (Blumstein y cols. 2010).

Las conductas sociales se han clasificado en conductas afiliativas y agonistas. Las **conductas afiliativas** implican el acercamiento mutuo; además otorgan a los participantes bienestar, *e.g.*, la conducta copulatoria (Lenz y cols. 2007), y la conducta maternal (Gonzales y cols. 2001, Melo y cols. 2009). Las **conductas agonistas** comprenden acciones que generan la retirada de al menos uno de los participantes de la interacción *e.g.*, la agresión ofensiva, la agresión materna (Melo y cols. 2009) y el aislamiento voluntario del grupo (Nakamura y cols. 2003, Lovic y cols. 2011, Melo y cols. 2006, 2009). La expresión equilibrada de ambos tipos de conductas, en respuesta a los factores internos y ambientales, permite la interacción armoniosa de la comunidad. Sin embargo, la ejecución exagerada o débil de alguna de dichas conductas conlleva a una disrupción del equilibrio social.

Los factores que regulan la expresión final de las conductas sociales son múltiples y dependen del contexto en el que ocurren. Tradicionalmente, la variabilidad de las conductas sociales se ha considerado desde los puntos de vista evolutivo y ecológico según los cuatro planteamientos estructurales de Tinbergen (1963) para el entendimiento de la diversidad conductual: **1)** causas inmediatas: mecanismos y desarrollo, **2)** causas últimas: funciones adaptativas y filogenia. Las causas inmediatas de la conducta se deben a factores fisiológicos,

hormonales y genéticos, incluso a la interacción entre ellos. Desde el punto de vista evolutivo, el desarrollo de las conductas sociales comprende las teorías del desarrollo tanto ontogenético como filogenético. En efecto según la teoría de Haeckel que dice “la ontogenia recapitula la filogenia” (Pellegrini y cols. 2007). Esto significa que el desarrollo ontogenético de cierta conducta afecta a la siguiente y ésta a la subsiguiente hasta que conforman parte de la historia filogenética a través de cientos de generaciones. Visto desde otro punto de vista, las causas funcionales de las conductas implican la influencia de la conducta misma en la supervivencia y reproducción. Finalmente, la historia filogenética de las conductas son útiles para obtener información de las ganancias o pérdidas evolutivas de una huella conductual (Tinbergen 1963). De este modo, la conducta copulatoria de un macho dominante depende del contexto social en que se encuentre. Se expresará si hay una o varias hembras receptivas. Su ejecución será influenciada por la presencia de otro macho subordinado o dominante, así como también, de si el macho está en territorio propio o ajeno. La conducta social les sirve a los machos para aparearse el mayor número de veces con hembras distintas y así perpetuar sus genes (García-Leal y cols. 2005). Así mismo, para preservar la vida, conseguir alimento, mantener el estatus social y delimitar el territorio. Cabe añadir que, en los sujetos dominantes la concentración de testosterona es alta, en tanto que en los subordinados es baja (García-Castells 2002).

Las interacciones sociales consisten en el despliegue de una gran variedad de conductas, en las que están involucrados distintos sustratos anatómicos, que son propios de uno u otro género. Tal dimorfismo sexual se refiere a las diferencias en la anatomía, fisiología y conducta entre machos y hembras (Keller 1988). El tamaño del cuerpo y del cerebro de los machos generalmente es más grande que el de las hembras. Las diferencias en el tamaño de determinados núcleos nerviosos tanto cerebrales como espinales se deben al número y tamaño de las neuronas que los constituyen. La mayoría de las regiones sexualmente dimórficas del cerebro pertenecen al hipotálamo y al sistema límbico (Dulce-Madeira y Lieberman 1995). El área preóptica fue la primera en describirse como sexualmente dimórfica y continúa siendo uno de los ejemplos más claros de dimorfismo tanto en animales de laboratorio como en humanos (Gorski y cols. 1978, Swaab y Fliers 1985). De igual manera, los núcleos espinales también presentan diferencias sexuales, particularmente las motoneuronas del Núcleo Bulbocavernoso (Breedlove y Arnold 1980, McKenna y Nadelhaft

1986, Breedlove y Hampson 2002). Estas motoneuronas se localizan en el asta ventral de la sustancia gris de la médula espinal (Hart y Melesse d' Hospital 1983, Lucio y cols. 2004), en la rata macho, en los segmentos espinales lumbares 5-6 (Breedlove y Arnold 1980). Este núcleo motor espinal regula la contracción de un músculo perineal estriado llamado bulbocavernoso cuya contracción facilita la erección peneana y la expulsión seminal (Sachs 1982, Hart y Melesse d' Hospital 1983, Holmes y cols.1991). En la rata hembra este núcleo es de menor tamaño que en el macho (Breedlove y Hampson 2002; **Fig. 1**).

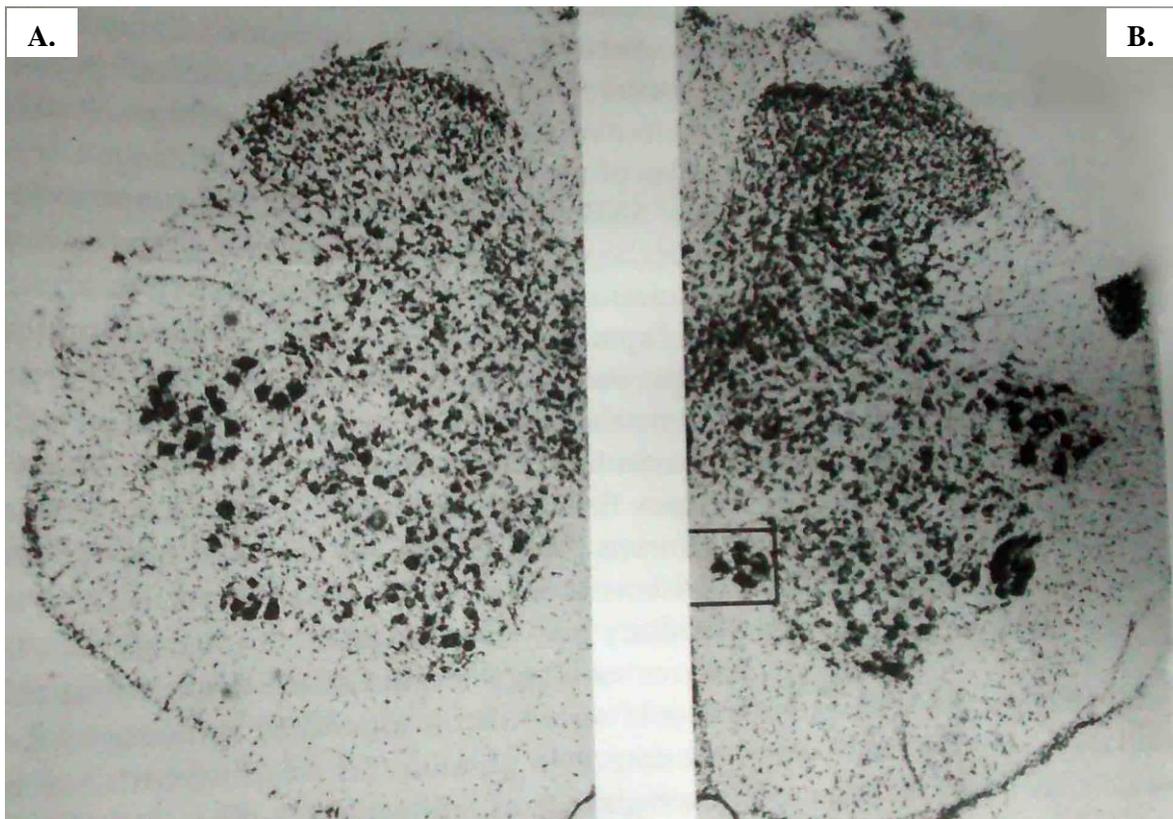


Fig. 1 Cortes transversales del segmento espinal lumbar 6. **A)** Segmento espinal de hembra en el que se observan motoneuronas del núcleo bulbocavernoso, los somas son pequeños y dispersos. **B)** Segmento espinal de macho en el que se observa mayor número y tamaño de los somas de las motoneuronas del mismo núcleo espinal (resaltadas con el cuadro). Modificado de Breedlove y Hampson 2002.

Los circuitos cerebrales y espinales asociados con las conductas sexuales exhiben diferencias estructurales que se correlacionan con el sexo, la preferencia sexual o la identidad

de género (Segovia y Guillamón 1993). En los roedores, el dimorfismo sexual de estos circuitos nerviosos ocurre durante el período perinatal (Keller 1988), interviniendo factores hormonales, sensoriales y sociales (Parra y cols. 2009). Las diferencias en los circuitos nerviosos permiten el comportamiento sexual distinto entre machos y hembras, tal como sucede con la conducta copulatoria (Reinicsh y cols. 1991, Keller 1988). La conducta copulatoria incluye patrones conductuales estereotipados que identifican a la hembra del macho. La hembra despliega la conducta receptiva: lordosis, y las conductas proceptivas: saltos, carreras en zig-zag y movimientos acelerados de la cabeza. Y el macho muestra las conductas de monta, intromisión y eyaculación. Este texto se enfocará en aquella de los machos.

1.2 Conducta Copulatoria Masculina

La conducta copulatoria de la rata macho se reconoce porque es similar a la de otros machos de mamíferos, incluye la ejecución de tres patrones conductuales identificados como monta, intromisión y eyaculación (**Fig. 2**). Durante la monta, el macho sujeta y palpa los flancos de la hembra con los miembros anteriores y realiza movimientos pélvicos repetitivos hacia adelante y hacia atrás sobre la grupa femenina, seguidos de la desmonta lenta. Los patrones de intromisión inician como los de monta, el último de ellos termina con un movimiento rápido y profundo que coincide con la inserción del pene en la vagina, seguido de la desmonta brusca y el auto-acicalamiento genital. Después de varias montas y de 8-12 intromisiones, el macho realiza el patrón conductual eyaculatorio. Dicho patrón incluye los movimientos pélvicos, la inserción peneana y la expulsión del fluido seminal, durante la cual se observa un movimiento pélvico más profundo y sostenido que el de la intromisión. Una vez ocurrida la deposición de semen en la vagina, el macho eleva el tronco y realiza un movimiento lateral lento de los miembros anteriores. La desmonta lenta es seguida del autoacicalamiento genital (Larsson 1956).

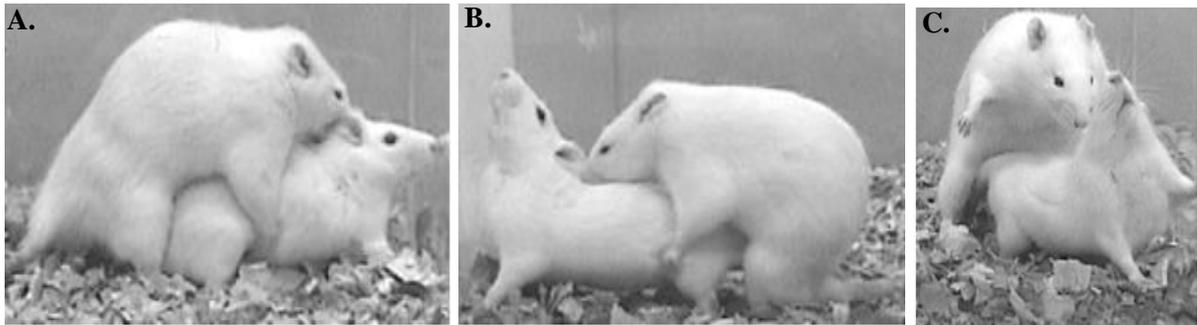


Fig. 2 Patrones conductuales copulatorios. **A)** Patrón conductual de monta. **B)** Patrón conductual de intromisión. **C)** Patrón conductual de eyaculación.

La ejecución de montas e intromisiones que culminan con la eyaculación constituyen una serie eyaculatoria. Posterior a la eyaculación sigue el intervalo posteyaculatorio (IPE), durante el cual el macho permanece refractario (tiempo necesario para sentir excitación sexual y tener una erección tras eyacular) a la estimulación sexual (**Fig3**). El número y curso temporal de estas respuestas permite reconocer y cuantificar algunos parámetros copulatorios que se ocupan para evaluar la conducta copulatoria masculina (Moralí 1991, Lucio y Tlachi-López 2008) tales como:

Latencia de Monta (LM). Intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce la rata hembra en el redondel de observación, donde se encuentra el macho, hasta que éste realiza el primer patrón de monta (**Fig. 3**). De todos los parámetros copulatorios, la latencia de monta, es considerada como indicador para evaluar la motivación sexual del macho ya que éste al realizar la monta no requiere de erección peneana o de que la hembra realice alguna postura que permita que la inserción peneana ocurra. Se considera que entre más reducida es la latencia de monta, más motivado se encuentra el macho. En general, la latencia de monta de los machos intactos y con experiencia es de escasos segundos.

Latencia de Intromisión (LI). Intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce a la hembra en el redondel, hasta que el macho realiza el primer patrón de intromisión (**Fig. 3**). La latencia de intromisión puede reflejar la rapidez que tiene el macho

para presentar la primera erección que le permita insertar el pene en la vagina. Comúnmente, los machos intactos y expertos sexualmente tienen latencias de intromisión de pocos segundos e incluso pueden iniciar la cópula con el patrón de intromisión.

Latencia de Eyacuación (LE). Intervalo de tiempo que transcurre entre el primer patrón de intromisión y el patrón de eyacuación (**Fig. 3**). La latencia de eyacuación de un macho intacto y con experiencia sexual puede ser de corto o largo tiempo sin que ello implique que sea más o menos efectivo. Simplemente, hay machos que eyaculan más rápido que otros. A medida que los machos van adquiriendo experiencia copulatoria puede ir reduciendo la latencia de eyacuación, otros en cambio, a pesar de la experiencia mantienen latencias mayores (Dewsbury 1969).

Número de Montas (NM). Número de veces que el macho despliega este patrón conductual por serie eyaculatoria. Cuando el número de montas es elevado es posible que la sensibilidad del pene esté disminuida debida a alguna manipulación.

Número de Intromisiones (NI). Número de veces que el macho despliega este patrón conductual por serie eyaculatoria. El número de intromisiones es considerado como una medida de la excitación para alcanzar el umbral de eyacuación. Sin embargo, no puede decirse que un macho que realiza tres intromisiones antes de eyacular es más o menos potente que otro macho que realiza trece o más intromisiones.

Utilizando dos de estos los parámetros (NI y NM) se calcula el *Índice de Intromisión (II)*. $NI/NM+NI$. Dado que es un índice, el resultado tiene un valor entre 0 y 1. El índice de intromisión se conoce también como eficiencia copulatoria del macho y refleja su potencial eréctil aunque también puede expresar la conducta femenina. Si por alguna manipulación o inadecuada inducción del estro, la hembra es poco responsiva, provoca que la eficiencia copulatoria del macho disminuya. Se considera que un macho tiene un adecuado potencial eréctil cuando el valor del índice de intromisión es más cercano a 1 (Lucio y Tlachi-López 2008).

Patrón Conductual Copulatorio

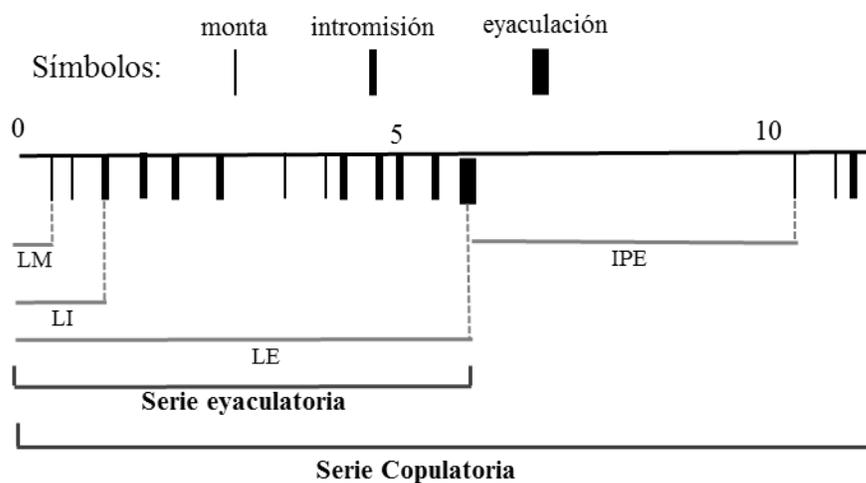


Fig. 3. Esquema que ejemplifica la secuencia de conducta copulatoria de la rata macho sobre una línea de tiempo en minutos. Las abreviaturas indican las medidas temporales utilizadas para analizar la cópula experimentalmente. LM: latencia de presentación de la primera monta, LI: latencia de presentación de la primera intromisión, LE: latencia para alcanzar la eyaculación, IPE: duración del intervalo post-eyaculatorio. Las respuestas de monta, intromisión y eyaculación se distinguen por medio de barras de distinto grosor.

Durante el patrón conductual de intromisión y eyaculación ocurren funciones fisiológicas que favorecen la erección peneana y la eyaculación e implican la participación coordinada de la musculatura lisa del tejido eréctil, de los vasos sanguíneos y de la musculatura estriada del periné (Lucio y cols. 2006). La erección se define como la tumescencia y rigidez del pene (Benson 1988) y su duración depende del tipo de pene, la más prolongada es la del pene del tipo vascular. Durante las inserciones del pene en la vagina se depositan pequeñas secreciones provenientes de las glándulas bulbouretrales que limpian la uretra del macho de restos de orina y favorecen el transporte de los espermatozoides a lo largo de este conducto. Las estructuras que participan en la erección están bajo el control tónico inhibitorio de estructuras supraespinales, tales como el núcleo paragigantocelular de la médula oblonga (Marson y McKenna 1992).

Después de un número previo de intromisiones (típicamente de 8-12), el macho logra la eyaculación (Larsson 1956). La eyaculación comprende dos fases: la primera es la emisión

que comprende el cierre del cuello vesical, la confluencia de las secreciones de las diferentes glándulas sexuales accesorias en la uretra proximal y el transporte de los espermatozoides por el vaso deferente desde la cauda epididimaria hasta la uretra proximal. Las secreciones de las glándulas constituyen el plasma seminal; el plasma más los espermatozoides forman el líquido seminal o semen. El plasma contiene diversas enzimas, azúcares, lípidos, oligoelementos y otras sustancias que proporciona a los espermatozoides un medio nutritivo y protector para su supervivencia y su desplazamiento durante su recorrido por el tracto reproductor femenino hasta el óvulo. Las secreciones glandulares son provistas en una secuencia específica en la uretra-prostática, a través de contracciones fásicas de las glándulas y conductos respectivos (Clément y Giuliano 2011). La segunda fase de la eyaculación es la de expulsión seminal. Se refiere a la salida del líquido seminal hacia el exterior por el meato urinario y depende principalmente de la contracción de los músculos bulboesponjosos, aunque también del dartos (capa del músculo liso que recubre la cara interna de la piel que constituye al escroto). Al contraerse el dartos y el cremáster (capa del músculo estriado), los testículos se acercan al cuerpo y la musculatura lisa que rodean al epidídimo y vaso deferente, impulsan los espermatozoides hacia la uretra-prostática. Posteriormente, las contracciones de la musculatura estriada, del isquiocavernoso y buboesponjoso favorecen la contracción de los divertículos uretrales. Estas contracciones expulsan el semen (espermatozoides y plasma seminal) por el meato urinario hacia el exterior (Lucio y cols. 2013).

El semen de la rata macho contiene enzimas que coagulan el fluido seminal en la vagina, de modo que se forma un tapón seminal que facilita el transporte espermático transcervical. Así, el tapón seminal tiene un papel muy importante para inducir la preñez (Matthews y Adler 1978, McClintock y cols. 1982). El tapón también tiene la función de dificultar que otro macho insemine a la hembra recién eyaculada. Para ello, debe retirar el tapón seminal del macho que le antecedió, 3-4 intromisiones son suficientes para retirar el tapón de la vagina (Matthews y Adler 1978, Lucio y cols. 1994, Lucio y cols. 2014). Si el desprendimiento del tapón ocurre en los primeros 5 min después de la eyaculación, el transporte espermático es interrumpido o incluso no ocurre (Lucio y cols. 2014). Por lo que, el intervalo posteyaculatorio que dura entre 5 y 10 min evita al macho retirar su propio tapón antes de que ocurra el transporte espermático (Beach y Jordan 1956).

1.3 Experiencia Temprana y Desarrollo de las Conductas Sociales

La expresión de las conductas sociales está influenciada por la experiencia sensorial, social y hormonal durante el período postnatal pre-destete (Moore y Power 1992). La experiencia sensorial es otorgada por la madre mediante la conducta materna y por los hermanos de camada mediante la interacción social. Durante la interacción madre-hijos ocurre el intercambio de estímulos sensoriales. La estimulación olfativa es de las crías hacia la madre y de la madre hacia las crías; la estimulación táctil durante los lamidos sobre la región perineal de la madre a las crías y la estimulación social durante el apelonamiento entre los hermanos de camada para termorregular la temperatura corporal (Moore 1984, Brike y Sadle 1987).

La rata de laboratorio ha sido ampliamente socorrida en los estudios de la interacción entre la madre y las crías. Cuando esta interacción es alterada mediante manipulaciones experimentales, como la **separación materna**, se modifica positiva o negativamente el desarrollo de los sistemas sensoriales (Rhees y cols. 2001, Akbari 2008). La separación materna puede ser parcial o total. La **separación materna parcial** consiste en sustraer a las crías del nido durante 15 min y después regresarlas a lo largo de los 21 días de lactancia. La **separación materna total** consiste en sustraer a las crías del nido a partir del cuarto día postnatal, durante las 24 h de los 21 días de lactancia. Tal manipulación obliga a utilizar un sistema de crianza artificial que proporcione calor, protección y nutrientes a las crías hasta el destete (22 días de edad) (Fleming y cols. 2002).

La separación materna parcial causa alteraciones fisiológicas y conductuales a largo plazo en los individuos (Hull y cols. 1984). También produce estrés debido a los cambios de la temperatura corporal y a los periodos de privación de nutrientes. En contraste, la **separación materna total** no produce tal estrés (Hall 1998), aunque los individuos presentan: **1)** deficiencia de atención e hiperactividad (Melo y cols. 2009, Gonzalez y cols. 2001), **2)** deficiencia de aprendizaje social (Lévy y cols. 2003), **3)** reducción de la respuesta inhibitoria al prepulso (elemento utilizado como modelo de esquizofrenia; Lovic y Fleming 2004) y en la conducta materna (Gonzalez y cols. 2001; González-Mariscal y Kinsley 2009), **4)** cambios en la respuesta a las anfetaminas (Lovic y cols. 2006), **5)** incremento en la respuesta al estrés (Gonzalez y cols. 2001), **6)** reducción en los niveles de sinaptosina

(proteína de las sinapsis), N-CAM (moléculas de adhesión celular), GAP-43 (proteínas para la elongación de los axones) y factor neurotrófico en varias regiones cerebrales como la corteza prefrontal y el núcleo accumbens (Chatterjee y cols. 2007), **7**) incrementa las conductas agresivas de las hembras no-gestantes (Melo y cols. 2006) y gestantes (Melo y cols. 2009) y **8**) mayor impulsividad (Lovic y cols. 2011). Interesantemente, la provisión de estímulos táctiles (con una brocha de pelo de camello) o sociales (con el acompañamiento de crías de la misma edad) durante el periodo de aislamiento, previenen parcialmente algunos de los efectos negativos de la separación materna total (Lenz y cols. 2007).

En las especies altriciales como la rata, la interacción social inicia desde el momento del nacimiento y a partir de ahí, el recién nacido recibe gran cantidad de estímulos sociales y sensoriales de la madre y de sus hermanos de camada. Se había propuesto que las conductas de apolonamiento solo servía para regular la temperatura corporal de las crías, *i.e.*, no existe una interacción social *per se*. No obstante, el contacto entre los hermanos mediante el apolonamiento tiene un rol social que influye en el desarrollo de las crías. Después del destete, la interacción social con sus co-específicos continúa, aunque se transforma en conductas de juego-lucha, que son esenciales para el desarrollo de las conductas agonistas (Panksepp 1981). Un animal juvenil que está aislado socialmente, no puede jugar con sus co-específicos, *i.e.*, no interacciona con ellos. Es por ello que cuando el individuo aislado alcanza la etapa adulta presenta alteraciones conductuales. Los machos muestran alteraciones en la conducta copulatoria masculina (Harlow 1986); además son agresivos (Potegal y Einon 1989). Esto indica que la experiencia social con los hermanos de camada, durante los periodos pre-destete y juvenil, son importantes para desarrollar adecuadamente las conductas afiliativas y agonistas.

Durante el período postnatal temprano, la madre acarrea a las crías al nido, las amamanta y las agrupa dentro del nido para efectos termorregulatorios. Además, les lame el cuerpo, particularmente la región perineal proveyéndoles estimulación sensorial táctil. El lamido perineal induce los reflejos de micción y defecación, por un lado (González-Mariscal y Kinsley 2009, González-Mariscal y Melo 2012). Por el otro, la estimulación táctil al periné es requerida para el desarrollo del Núcleo Espinal del Bulbocavernoso (SNB por sus siglas en inglés). Se trata de un grupo de motoneuronas sexualmente dimórficas, que controlan los

reflejos peneanos durante la cópula (Moore 1984). Es difícil observar tales respuestas peneanas durante la cópula porque su duración es de milisegundos (Lenz y cols. 2008). Sin embargo, pueden ser inducidos y observados fuera del contexto copulatorio mediante la retracción prepucial e incluyen movimientos rápidos del pene “quick flips”, extensiones peneanas “long flips” y erecciones intensas “cups” (Leipheimer y Sachs 1988). Los “quick y long flips” ocurren durante las intromisiones, sirven para localizar primero el orificio vaginal y luego para introducir el pene en la vagina. Los “cups” ocurren durante la expulsión seminal durante la eyaculación. Los estudios electromiográficos en los que se insertan crónicamente electrodos de registro en los músculos perineales muestran que los reflejos peneanos, efectivamente se presentan durante la cópula (Holmes y cols. 1991).

Se sabe poco acerca de los efectos de la privación de estímulos maternos y de los hermanos de camada durante el desarrollo postnatal temprano sobre la expresión de los patrones conductuales copulatorios en los machos adultos y sobre las características del eyaculado.

2. ANTECEDENTES

Es preciso recordar que la conducta materna de la rata incluye la estimulación perineal a las crías para inducir los reflejos de micción y defecación (González-Mariscal y Kinsley 2009, González-Mariscal y Melo 2012). No obstante, las crías macho, son las que reciben mayor frecuencia y tiempo de estimulación en la región perineal que a las hembras (Moore y Morelli 1979). Por lo anterior, Moore y sus colaboradores (1984, 1986), así como Brike y Sadler (1987) diseñaron experimentos muy ingeniosos para dilucidar la importancia de la experiencia sensorial táctil perineal sobre el despliegue copulatorio en la rata macho. El primer hallazgo fue que las madres a las que les provocaron anosmia realizaron menor número de lamidos perineales a las crías macho. A tales crías les permitieron alcanzar la madurez sexual y les realizaron la orquidectomía para luego ser tratados con testosterona. Tales machos mostraron mayor duración en las latencias de eyaculación, intervalos interintromisión, así como en los periodos posteyaculatorios (Moore 1984). También se encontró que los machos adultos sometidos a la separación materna parcial, presentan estrés

crónico (Lamanowska 2011). Se evidenció además que tal separación altera la conducta copulatoria de los machos porque provoca mayores latencia de monta e intromisión y menor porcentaje de individuos eyaculadores (84% de machos controles vs 50% de los machos con separación maternal; Rhees 2001). Los autores indican que se debe a la desnutrición y estrés (McCormick y cols. 1998). Finalmente, Brike y Sadler (1987) evaluaron el cambio de olores de las crías sobre los estímulos que la madre les provee, y observaron que al aplicar perfume sobre el área perineal disminuyeron los lamidos a esta. Además, cuando estos machos alcanzaron la madurez sexual mostraron parámetros copulatorios similares a los encontrados por Moore (1984). Así, ambos estudios constatan que los lamidos en la región perineal durante el periodo postnatal predestete influyen sustancialmente en la regulación de la cópula. A pesar de esto, en estos diseños experimentales no se controlan los estímulos que las crías reciben durante este periodo, ya que aún reciben lamidos de la madre y estímulos de los hermanos de camada. Además, considerando que el diseño de la separación materna parcial no es la manipulación adecuada para determinar efectos conductuales. Esto nos hizo considerar que utilizando la separación materna total (diseño que en nuestro laboratorio utilizamos) junto con la crianza artificial es mejor para evaluar la participación de los estímulos sensoriales y sociales provenientes de la madre y de los compañeros de camada. Nuestra manipulación garantiza ausencia de desnutrición y estrés (Fleming y cols. 2002, Melo y cols. 2006, 2009; Lomanowska y cols. 2011). En estudios previos se ha encontrado que los machos sometidos al sistema de crianza artificial tienen mayor latencia en las respuestas peneanas ex-cópula así como, menor ramificaciones dendrítica de las neuronas del núcleo bulbocavernoso espinal, estructura que involucrada en los reflejos peneanos ex-cópula, de igual manera regula la contracción del músculo perineal estriado llamado bulbocavernoso cuya contracción facilita la erección peneana y la expulsión seminal (Sachs 1982, Hart y Melesse d' Hospital 1983, Holmes y cols.1991, Lenz y cols. 2008; **Fig. 4**). Así mismo, se ha encontrado menor inmunoreactividad a la proteína c-fos en el área preóptica media, que participa en la regulación de la conducta copulatoria masculina (Akbari y cols. 2008). Estos antecedentes muestran que el Sistema de crianza artificial estructuras involucradas en la cópula masculina.

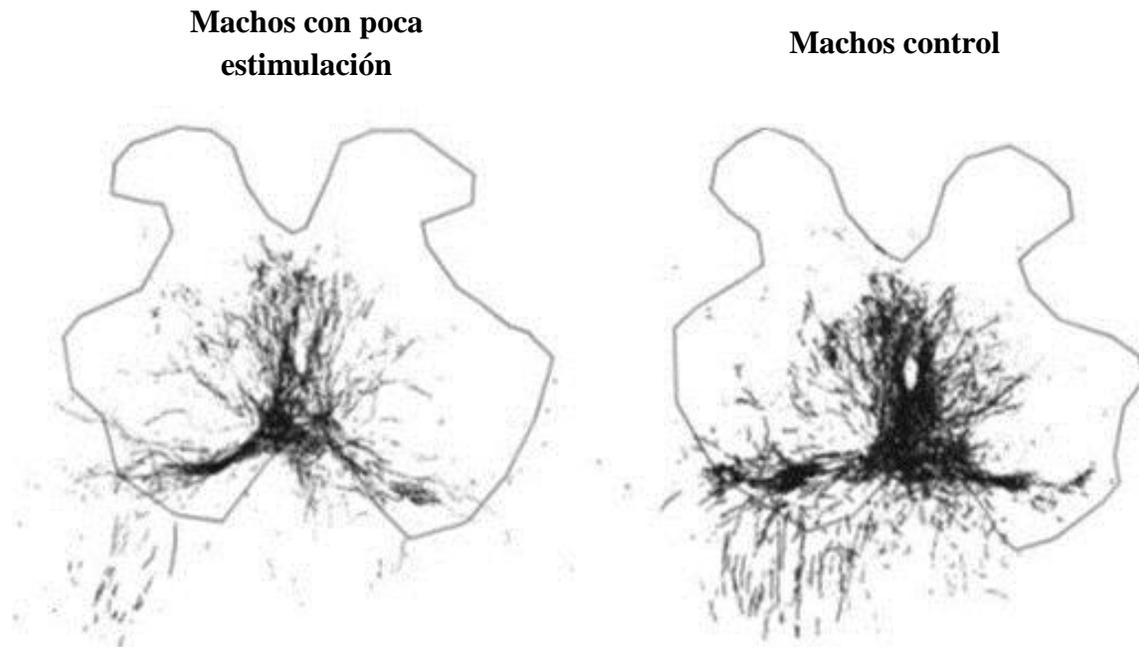


Fig. 4 Microfotografías de campo oscuro de secciones transversales de segmentos espinales lumbares de rata macho criada artificialmente que recibió poca estimulación táctil (izquierda) y un macho control criado por su madre (derecha). Modificado de Lenz y cols. 2008.

Recapitulando, el hecho que los reflejos ex-cópula estén disminuidos y que las motoneuronas que regulan la contracción del músculo bulboesponjoso sean de menor tamaño y menor ramificación debido a la falta de estimulación anogenital provista por la madre a las crías macho, hace suponer que es posible que no se expresen los patrones conductuales de intromisión y de eyaculación y que los parámetros copulatorios podrían estar modificados.

En estudios preliminares con machos sometidos a la separación materna total y criados artificialmente encontramos que pocos adquieren experiencia copulatoria, más aún pocos despliegan el patrón conductual de eyaculación, aquellos que lo hacen presentan mayor número de montas y largas latencias de intromisión, a pesar de haber sido expuestos a cuatro pruebas copulatorias (Aguilar 2012). En animales intactos, cuatro pruebas son suficientes para adquirir experiencia copulatoria (Lucio y Tlachi-López 2008) y presentar el fenotipo copulatorio. Es posible que el número de pruebas para los machos que han sido aislados de su madre y hermanos, sea insuficiente para adquirir la experiencia sexual requerida y

establecer el fenotipo copulatorio. Por ello, en el presente trabajo consideramos que duplicar el tiempo de entrenamiento copulatorio para que los animales aislados adquieran experiencia sexual; además, decidimos analizar el eyaculado. Considerando que la estimulación de la región perineal de la cría macho es crucial para que exprese la conducta copulatoria estimulamos en las crías aisladas el periné, supliendo así el lamido genital que realizan las madres a sus crías. De igual manera, es válido pensar que el los parámetros espermáticos de los machos aislados estén siendo afectados debido a la atrofia de las estructuras involucradas con la expulsión seminal (ramificación dendrítica de las neuronas del núcleo bulbocavernoso espinal, Lenz y cols. 2008).

3. HIPÓTESIS

- El incremento en el número de encuentros copulatorios, provocará que los machos sometidos al aislamiento socio-materno postnatal predestete expresen, cuando adultos, conducta copulatoria similar a aquellos criados por su madre.
- La estimulación táctil perineal y/o corporal, que simule el lamido maternal, provocará que los machos sometidos al aislamiento socio-materno postnatal predestete expresen, cuando adultos, conducta copulatoria similar a aquellos criados por su madre.
- El aislamiento socio-materno postnatal predestete de la rata macho disminuirá los valores de los parámetros seminales.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar si la estimulación táctil perineal y corporal que simule el lamido materno más el incremento a ocho encuentros copulatorios provoca que los machos sometidos al aislamiento socio-materno postnatal expresan, cuando adultos, conducta copulatoria similar a aquellos criados por su madre.

4.2 Objetivos Particulares

1) Determinar si la estimulación táctil perineal durante el aislamiento socio-materno postnatal predestete previene los efectos negativos del aislamiento favoreciendo la culminación de series copulatorias de machos adultos, a los que se les permita realizar hasta ocho encuentros copulatorios.

2) Demostrar si la estimulación táctil corporal durante el aislamiento socio-materno postnatal predestete previene los efectos negativos del aislamiento favoreciendo la culminación de series copulatorias de machos adultos, a los que se les permita realizar hasta ocho encuentros copulatorios.

3) Evaluar si el aislamiento socio-materno postnatal predestete afecta la cuenta espermática y tamaño del tapón seminal, del octavo encuentro copulatorio.

5. METODOLOGÍA

5.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar macho del Centro de Investigación en Reproducción Animal de Ixtacuixtla, Tlaxcala. Las ratas crías fueron sometidas al aislamiento social temprano y crianza artificial durante el periodo postnatal temprano hasta el destete. Una vez destetados, los críos machos fueron alojados en jaulas individuales de acrílico transparente (plexiglás; 44 cm de largo x 28 cm de ancho x 19.5 cm de altura) dentro del bioterio. Se mantuvieron a $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, con humedad de 50-60% y ciclo luz-obscuridad invertido. La luz se apagaba a las 1500 h. El agua y alimento (Purina) se les proporcionó *ad libitum*.

5.2 Diseño Experimental

En el día del parto, la camada fue ajustada a 8 crías (cinco machos y tres hembras). En el día 4 postnatal, tres machos se retiraron del nido y fueron anestesiados con 1-2 ml de metoxifluorano (Metofane, CDMV, Inc). Se les implantó un catéter de polietileno PE10 en la mejilla, según procedimiento de Lomanowska y cols. (2011). Las dos machos implantadas fueron colocadas dentro del sistema de crianza artificial, con temperatura controlada y alimentadas con una fórmula láctea. Se mantuvieron ahí durante 18 días.

5.3 Crianza Artificial

Después del implante del catéter de polietileno PE10, las crías se alojaron individualmente en recipientes de plástico (15 cm de altura x 10 cm de diámetro) flotando en un contenedor (25cm de alto, 75cm de frente y 32cm de fondo) con agua caliente ($36-40^{\circ}\text{C}$), dentro de un cuarto mantenido a $24-25^{\circ}\text{C}$ y con humedad de 46-48%. El catéter PE10 se conectó a otro catéter de mayor calibre (PE-50) y éste a su vez a una jeringa de 10 ml con fórmula tibia la cual estuvo montada sobre una bomba de infusión programable Harvard Mod. PH2000. Esta última fue programada para infundir leche durante 10 min cada hora durante las 24 h del día. El volumen y la velocidad de infusión se calcularon según el peso

promedio de las crías conectadas a la bomba. El primer día de aislamiento (día postnatal 4), las crías recibieron un volumen de leche igual a 33% de peso corporal promedio, tal cantidad se incrementó 1% cada día. Cada mañana las crías se desconectaban de la bomba y se pesaban. Los catéteres se limpiaron con agua caliente, las jeringas se reemplazaron por otras nuevas con fórmula tibia, finalmente, las crías se reconectaron a la bomba infusora de leche. La velocidad de infusión se re-calculó de acuerdo con el nuevo peso promedio de las crías. En el día 22 postnatal, las crías fueron destetadas (tanto aquellas criadas por su madre como las mantenidas en el sistema de crianza artificial).

5.4 Grupos Experimentales

Las crías macho se mantuvieron aisladas durante el periodo postnatal. Por eso, cada cría fue colocada sola dentro de un recipiente individual de plástico en el sistema de crianza artificial. A los 4 días de vida postnatal fueron asignadas a uno de estos grupos: **1) Criados Artificialmente (CA; n=8)**. **2) Criados Artificialmente con estimulación en la región Perineal (CA-Perineal; n=8)**. Las crías recibieron estimulación perineal. **3) Criados Artificialmente con estimulación Corporal (CA-Corporal; n=8)**. Las crías macho de estos grupos (CA, CA-Perineal y CA-Corporal) recibieron la estimulación por 90 segundos, cada 3 h, durante 24 h mientras se mantuvieron en el sistema de crianza artificial, es decir, desde el día 4 hasta el 22 de vida post-natal. La estimulación se realizó utilizando un pincel húmedo con cerdas de camello, simulando el lamido que realiza la madre (**Fig. 5**). Cabe enfatizar que todas las crías macho de esos tres grupos se mantuvieron aisladas, es decir, sin la presencia de la madre ni hermanos de camada durante la crianza artificial y que recibieron la estimulación perineal mínima necesaria (dos veces al día, durante 90 segundos). Además de los tres grupos criados artificialmente, se formó el de **Criados Maternalmente (CM; n=8)**, estos machos fueron criados por su madre desde el día 1 hasta el día 22 postnatal. En el día 22 postnatal, los machos de todos los grupos fueron destetados y alojados en jaulas de acrílico con dos o tres co-específicos de la misma edad y se inició la transición de ingestión alimenticia con una mezcla de fórmula láctea y alimento pulverizado. Permanecieron así hasta el momento en que fueron probados conductualmente (3 meses de edad).

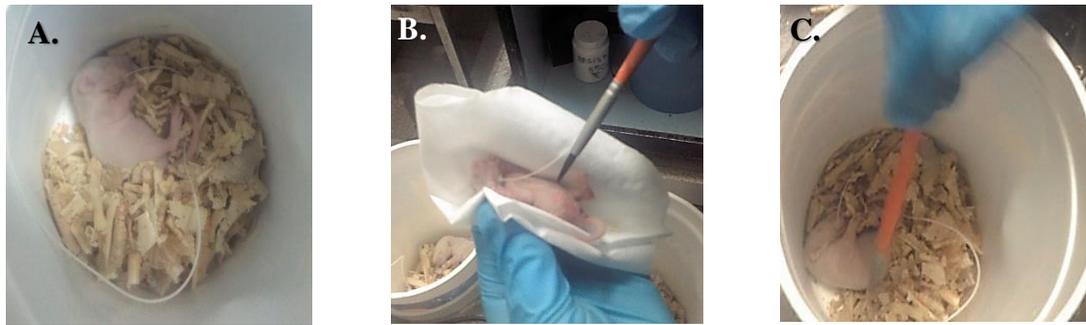


Fig. 5 Grupos experimentales. **A)** Cría aislada dentro de un contenedor. **B)** Cría aislada que recibió estimulación en la región perineal. **C)** Cría aislada que recibió estimulación corporal.

5.5 Preparación de la Leche Artificial

La fórmula láctea fue provista por la Universidad de Iowa, EUA (Dieta Messer; Messer y cols. 1969) cuya fórmula contiene: $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $FeSO_4$, KCl y $MgCl_2$, además administramos, metionina, triptófano, vitamina Mix, fosfato de calcio tribásico y ácido deoxicólico (Sigma) y leche evaporada Carnation, agua estéril, proteína de soya, aceite de maíz.

5.6 Ovariectomías e Inducción de Estro

Las ratas hembra de 200 g de peso corporal fueron anestesiadas con ketamina (0.6 ml/kg) y rompún (0.375 ml/kg), rasuradas en ambos flancos. Se les hizo una incisión de 1 cm en la piel de los flancos y luego en el músculo abdominal transverso. Se introdujeron unas pinzas para localizar el ovario, mismo que después de ser ligado fue extraído. Posteriormente, se suturaron el músculo y la piel. El procedimiento se repitió para el lado contralateral. Después de dos semanas de recuperación operatoria, se les administró, de manera subcutánea, 10 μ g de benzoato de estradiol y 48 h después 2 mg progesterona (Sigma). A la semana siguiente se repitió la administración hormonal, en la misma secuencia para inducir el estro conductual.

5.7 Evaluación de la Conducta Copulatoria Masculina

Los machos de los cuatro grupos (CM, CA, CA-Perineal, CA-Corporal) cuando cumplieron 3 meses de edad (300 g de peso corporal) fueron sometidos a ocho pruebas de entrenamiento copulatorio, con intervalo de dos-tres días entre ellas. Las pruebas se realizaron durante la fase oscura del ciclo de luz-oscuridad. Se utilizó un cilindro de plexiglás (60 cm de altura x 60 cm de diámetro), dentro del cual se colocó al macho durante 5 min para su habituación y posteriormente a una hembra ovariectomizada con estro inducido. Las pruebas copulatorias finalizaron a los 15 min si el macho solo realizaba montas o no ejecutaba ningún patrón copulatorio. A los 30 min después de la primera intromisión aunque no hubiera eyaculación, o bien en el momento cuando el macho presentaba el patrón conductual de eyaculación (Lucio y cols. 1994). Las pruebas fueron de una serie eyaculatoria y se registraron los parámetros copulatorios convencionales: Latencia de monta, de intromisión y de eyaculación; así como el número de montas e intromisiones. Además se calculó el índice de intromisión.

5.8 Espermatobioscopía Indirecta en la Octava Prueba Copulatoria

En la octava prueba copulatoria, las hembras que copularon con aquellos machos que presentaron el patrón conductual de eyaculación fueron sacrificadas para obtener de ellas el fluido contenido en los cuernos uterino y el tapón seminal para realizarles la espermatobioscopía indirecta llamada así debido a que la muestra de semen no se toma directamente del macho sino que se extrae de los cuernos uterinos de la hembra. Tras la eyaculación se dejaron transcurrir 5 min para que sucediera el transporte espermático transcervical. Posteriormente, a la hembra anestesiada con pentobarbital sódico (26 mg/kg peso corporal, i.p.) se le extrajeron los cuernos uterinos y se colocaron en una caja Petri (con solución salina a 37°C) para retirarles el tejido graso y vasos sanguíneos adyacentes. Después, se realizó una incisión en el extremo distal de cada cuerno uterino para verter el contenido en un tubo para microcentrífuga, mantenido en un baño térmico a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Inmediatamente después, se evaluó la Cuenta espermática: se refiere a la estimación del

número de espermatozoides contenidos en el fluido uterino. Se expresó en millones de espermatozoides/ml (Lucio y cols. 2009).

El tapón seminal se obtuvo de la vagina, para ello, se separó la sínfisis púbica y se realizó una incisión longitudinal en la pared vaginal. Con una espátula se desprendió el tapón de las paredes vaginales y cérvix. Se determinaron:

Peso: Masa del tapón seminal expresada en miligramos y

Tamaño (largo y ancho): Medida utilizará un vernier digital y expresado en milímetros (Lucio y cols. 2009).

5.9 Análisis Estadístico

Se realizó la prueba estadística de X^2 para comparar los porcentajes de machos que realizaron la serie eyaculatoria completa en al menos las cuatro últimas pruebas; así como para el porcentaje de machos que ejecutaron el patrón conductual de eyaculación en cada prueba copulatoria.

Mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene, se determinó que los datos seguían una distribución normal. Por lo tanto, se utilizó ANOVA para comparar la ganancia de peso durante los primeros días postnatales de los grupos experimentales, así como la latencia, la frecuencia y la duración de los diferentes parámetros conductuales entre los cuatro grupos experimentales por cada día de prueba. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los grupos en un día específico, se utilizó la prueba *post-hoc* de Tukey para comparar dos grupos independientes. En todos los casos que mostraron un valor $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

6. RESULTADOS

Los sujetos experimentales no sufrieron desnutrición durante el tiempo en el que fueron sometidos al sistema de Crianza Artificial. No se observan diferencias en la ganancia de peso entre los machos CM, CA, CA-Perineal y CA-Corporal (**Fig. 6**).

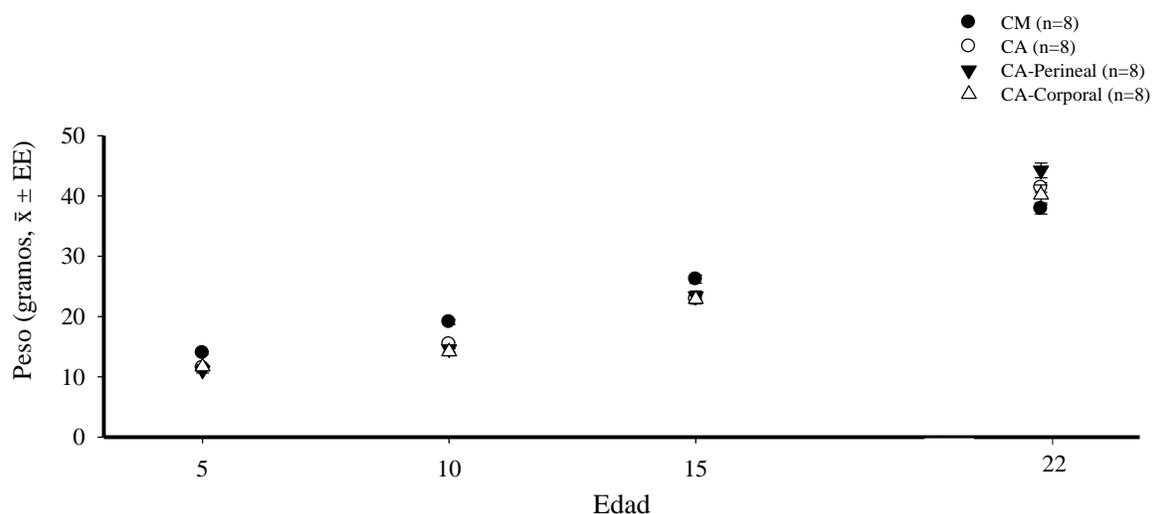


Fig. 6 Ganancia de peso de grupos experimentales. Se muestra $\bar{x} \pm EE$., ANOVA.

6.1 Análisis de las Ocho Pruebas Copulatorias de los Machos Criados Maternalmente, Criados Artificialmente, Criados Artificialmente que Recibieron Estimulación Táctil Perineal o Corporal

Se evaluó la conducta copulatoria de cada uno de los individuos por prueba copulatoria de todos los grupos experimentales (CM, CA, CA-Perineal y CA-Corporal; **Tabla 1**). El grupo CM realizó mayor número de series eyaculatorias completas en las cuatro últimas pruebas con respecto los machos CA y CA-Perineal. En contraste, el 0% de los machos CA presentó el patrón conductual de eyaculación durante las últimas cuatro pruebas copulatorias, solamente el 12.50% eyaculo en las pruebas 5, 6 y 7. El macho #6 no copuló en la mayoría de las pruebas. El macho #3 completó la series eyaculatorias en una ocasión y el macho #8 en dos. Respecto al grupo CA-Perineal solamente dos machos ejecutaron el patrón conductual de eyaculación, en las cuatro últimas pruebas. También se muestran tanto

a los individuos que realizaron cópulas incompletas y que no copularon. Respecto al grupo CA-Corporal todos los individuos ejecutaron el patrón conductual de eyaculación en al menos las cuatro últimas pruebas.

En la **Tabla 2** se muestra el porcentaje de individuos que copularon en al menos las cuatro últimas pruebas. Se encontró que el porcentaje de machos que completaron las cópulas fue de 100%, 0%, 25% y 100% para los grupos CM, CA, CA-Perineal y CA-Corporal, respectivamente. Se observó que el porcentaje de machos CM y CA-Corporal fue significativamente mayor que el de los machos CA y CA-Perineal ($p < 0.05$, para todas las comparaciones).

6.2 Patrón Conductual de Eyaculación

Se obtuvo el porcentaje de machos (de los grupos CM, CA, CA-Perineal y CA-Corporal) que presentaron el patrón conductual de eyaculación en cada una de las ocho pruebas copulatorias. El porcentaje de machos CM que presentó el patrón conductual en la primera prueba copulatoria fue significativamente mayor (45.45%) a los demás grupos experimentales (0%; $p < 0.05$). A partir de la segunda prueba el porcentaje de los CA-Corporal aumentó a 40%, siendo estadísticamente igual a los CM. A partir de la segunda prueba copulatoria los grupos CM y CA-Corporal fueron significativamente mayores que los CA y CA-Perineal, ($^{ab}p < 0.05$). Se realizó la prueba de X^2 entre grupos por prueba copulatoria (**Tabla 3**).

Tabla 1 Machos que ejecutaron los patrones conductuales copulatorios.

Macho	Pruebas Copulatorias								Cópulas completas (M+I+E)	Cópulas incompletas (M, I)	Sin cópulas	
	1	2	3	4	5	6	7	8				
CM (n=8)	1	I	I	E	E	E	E	E	6	2		
	2	E	8									
	3	E	8									
	4	I	E	E	E	E	E	E	7	1		
	5	E	8									
	6	I	E	E	E	E	E	E	7	1		
	7	M	E	E	E	E	E	E	7	1		
	8	E	8									
CA (n=8)	1	I	M	-	M	-	I	M	-		5	3
	2	-	M	-	I	I	I	I	-		5	3
	3	M	M	M	M	-	I	E	-	1	5	2
	4	-	M	-	M	-	M	I	-		4	4
	5	I	M	M	-	M	I	-	I		6	2
	6	M	-	-	-	-	-	-	-		1	7
	7	I	I	I	I	I	I	I	I		8	
	8	I	I	I	I	E	E	I	I	2	6	
CA-Perineal (n=8)	1	I	-	E	I	-	M	-	-	1	3	4
	2	-	I	-	I	E	E	E	E	4	2	2
	3	-	-	-	-	-	I	-	-		1	7
	4	-	I	M	E	I	M	I	I	1	6	1
	5	-	-	-	-	M	-	I	I		3	5
	6	M	M	M	I	I	E	I	M	1	6	
	7	I	M	M	E	E	E	E	E	5	3	
	8	M	I	M	E	E	E	I	-	3	4	1
CA-Corporal (n=8)	1	I	E	E	E	E	E	E	7	1		
	2	M	E	E	E	E	E	E	7	1		
	3	I	M	E	E	E	E	E	6	2		
	4	I	I	E	E	E	E	E	6	2		
	5	I	I	E	E	E	E	E	6	2		
	6	I	E	E	E	E	E	E	7	1		
	7	M	E	E	E	E	E	E	7	1		
	8	M	M	E	E	E	E	E	6	2		

M=machos que montaron. I=machos que montaron e intromitieron. E=machos que eyacularon.
 “-”=no realizaron ningún patrón copulatorio. Las letras “negritas” se indican los individuos que
 ejecutaron el patrón conductual de eyaculación, en al menos, las cuatro últimas pruebas copulatorias.

Tabla 2. Porcentaje de machos que ejecutaron el patrón conductual de eyaculación en las últimas cuatro pruebas copulatorias.

CM (n=8)	CA (n=8)	CA-Perineal (n=8)	CA-Corporal (n=8)
100% ^a	0% ^{ab}	25% ^{ab}	100% ^b

Prueba X^2 , ^{ab}p<0.05

Tabla 3. Porcentaje de machos de los diferentes grupos experimentales que presentaron el patrón conductual de eyaculación.

Prueba copulatoria	Grupos Experimentales			
	CM (n=8)	CA (n=8)	CA-Perineal (n=8)	CA-Corporal (n=8)
1	50.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a
2	87.50 ^a	0.00 ^{ab}	0.00 ^{ab}	50.00 ^b
3	100.00 ^a	0.00 ^{ab}	12.50 ^{ab}	100.00 ^b
4	100.00 ^a	0.00 ^{ab}	37.50 ^{ab}	100.00 ^b
5	100.00 ^a	12.50 ^{ab}	37.50 ^{ab}	100.00 ^b
6	100.00 ^a	12.50 ^{ab}	50.00 ^{ab}	100.00 ^b
7	100.00 ^a	12.50 ^{ab}	25.00 ^{ab}	100.00 ^b
8	100.00 ^a	0.00 ^{ab}	25.00 ^{ab}	100.00 ^b

Prueba X^2 , ^{ab}p<0.05

6.3 Parámetros Copulatorios

Efecto de la Crianza Artificial sobre la Latencia de Monta

Los machos CA mostraron mayor latencia para realizar la primera monta en las pruebas dos, tres cuatro y seis que los machos CM ($p<0.05$; ANOVA). Conforme aumentó el número de oportunidades copulatorias, la latencia de monta fue disminuyendo (**Fig. 7**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Perineal sobre la Latencia de Monta

La latencia de monta de los machos CM versus machos CA-Perineal fue similar durante las ocho pruebas copulatorias. Exclusivamente en la prueba seis, la latencia de monta

de los machos CA-Perineal fue significativamente menor que la de los machos CA ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 7**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Corporal sobre la Latencia de Monta

Al comparar la latencia de monta de los machos CM contra CA-Corporal no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las ocho pruebas copulatorias. En la prueba seis, se observó que la latencia de monta de los CA-Corporal fue significativamente menor que la de los machos CA ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 7**).

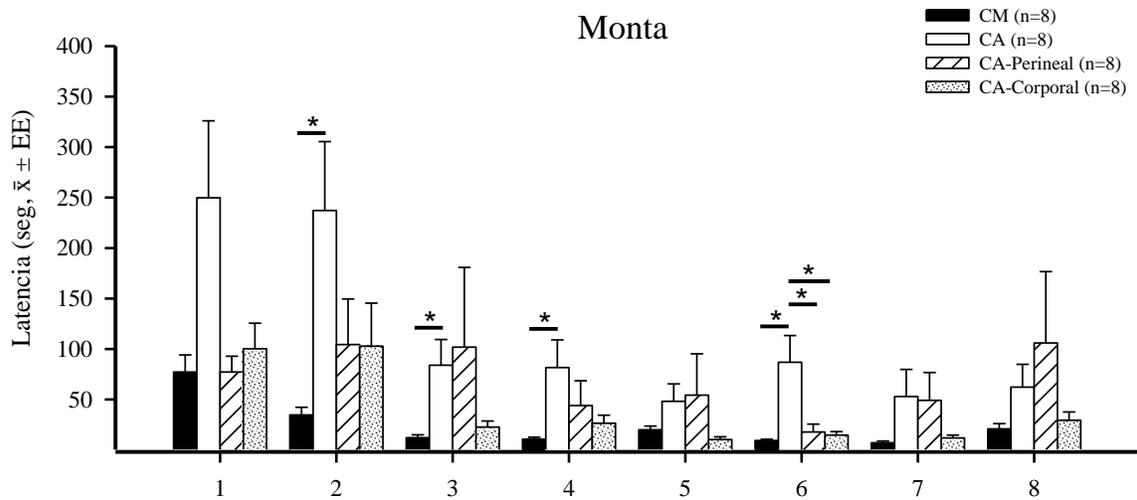


Fig. 7 Latencia de monta. Existen diferencias significativas entre los grupos CA y CM y CA-Corporal en la segunda, cuarta y sexta prueba copulatoria. CA-Perineal es significativamente menor a CA solamente en la sexta prueba. $\bar{x} \pm EE$. Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA $*p < 0.05$ seguida de la prueba *post-hoc* Tukey.

Efecto de la Crianza Artificial sobre la Latencia de Intromisión

Los machos CA mostraron mayor latencia de intromisión en la mayoría de las pruebas copulatorias. En las pruebas cuatro y seis este grupo mostró significativamente mayor latencia respecto a los machos CM ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 8**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Perineal sobre la Latencia de Intromisión

La latencia de la primera intromisión de los machos CA-Perineal fue mayor respecto a la de los machos CM y CA durante la prueba siete. ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 8**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Corporal sobre la Latencia de Intromisión

Al comparar la latencia para realizar la primera intromisión de los machos CA-Corporal con los CM no se observaron diferencias significativas. Así mismo, la latencia de intromisión de los machos CA-Corporal fue menor respecto a la de los machos CA en la prueba seis ($p < 0.05$; ANOVA). De igual manera, la latencia de intromisión de los machos CA-Corporal fue menor respecto a la de los machos CA-Perineal en a prueba siete ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 8**).

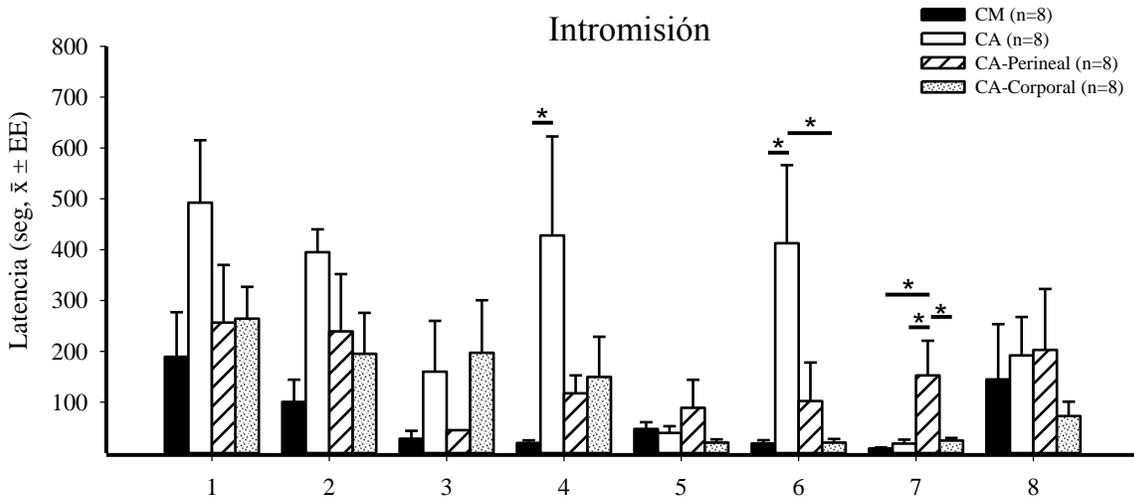


Fig. 8 Latencia de intromisión. Existen diferencias significativas entre los grupos CA vs CM y CA-Corporal en la cuarta, sexta y séptima prueba copulatoria. Así como en la séptima prueba copulatoria entre los CA-Perineal y CA-Corporal. $\bar{x} \pm EE$. Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA $*p < 0.05$ seguida de la prueba *post-hoc* Tukey.

Efecto de la Crianza Artificial sobre la Latencia de Eyaculación

Debido a que este parámetro fue presentado solamente por los machos que muestran el patrón conductual de eyaculación, es decir, los del grupo CA en las pruebas copulatorias cinco, seis y siete, no pudo compararse estadísticamente contra los demás grupos experimentales (**Tablas 1 y 2**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Perineal sobre la Latencia de Eyaculación

No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales (**Fig. 9**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Corporal sobre la Latencia de Eyaculación

No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales (**Fig. 9**).

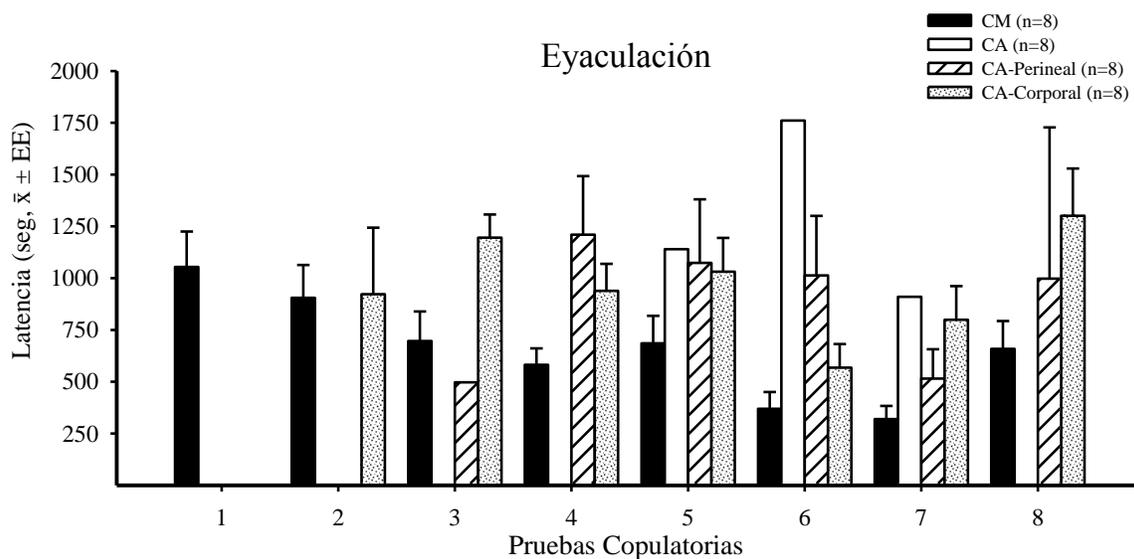


Fig. 9 Latencia de eyaculación. No se observan diferencias significativas. $\bar{x} \pm EE$. Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA.

Efecto de la Crianza Artificial sobre el Número de Montas

En la mayoría de las pruebas copulatorias los machos CA ejecutaron menos montas comparados con los demás grupos experimentales, a excepción de la sexta y séptima prueba, en la cual los machos CM realizaron menos montas. A pesar de esto, no se observaron diferencias significativas a partir de la segunda prueba copulatoria (ANOVA; **Fig. 10**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Perineal sobre el Número de Montas

Se comparó el número de montas de los machos CA-Perineal contra los demás grupos experimentales y no se encontraron diferencias significativas (**Fig. 10**).

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Corporal sobre el Número de Montas

Se comparó el número de montas de los machos CA-Corporal contra los demás grupos experimentales y no se encontraron diferencias significativas. (**Fig. 10**).

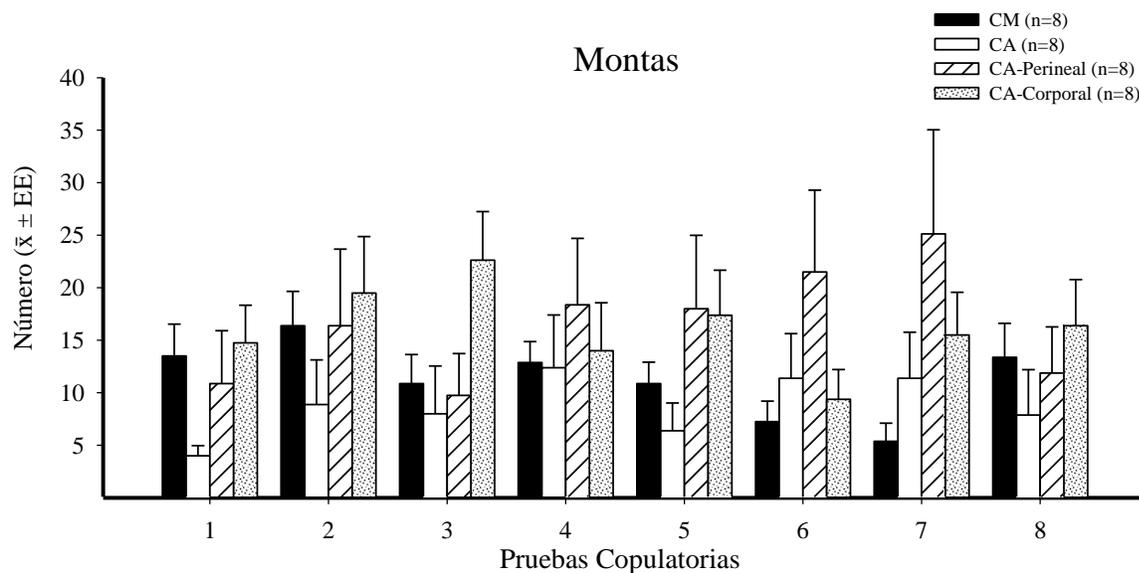


Fig. 10 Número de montas durante las ocho pruebas copulatorias. No se observan diferencias significativas entre los grupos. $\bar{x} \pm EE$. Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA.

Efecto de la Crianza Artificial sobre el Número de Intromisiones

El número de intromisiones de los machos CA en la segunda, tercera y cuarta prueba copulatoria fue significativamente menor respecto a los machos CM ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 11**). A partir de la quinta prueba copulatoria no se observaron diferencias significativas.

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Perineal sobre el Número de Intromisiones

Al comparar el número de intromisiones entre los machos CA-Perineal y los CM se encontró diferencia significativa en la segunda, tercera y cuarta prueba copulatoria, siendo este último grupo el de valores más altos ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 11**). En las demás pruebas copulatorias no hubo diferencias.

Efecto de la Crianza Artificial más la Estimulación Corporal sobre el Número de Intromisiones

Cuando se comparó el número de intromisiones entre los machos CA-Corporal y los CM no se encontraron diferencias significativas. Así mismo, se comparó este parámetro entre los machos CA-Corporal y CA de la cual se encontró diferencias significativas en la segunda, tercera y cuarta prueba copulatoria siendo este último grupo el de valores más altos. En la quinta prueba solamente se encontró diferencias significativas entre el grupo CA-Corporal y CA siendo este último el de menor número de intromisiones ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 11**).

Además de los parámetros copulatorios se estimó el Índice de Intromisión. Para el caso de los machos sometidos a la crianza artificial se encontró que hubo diferencias significativas entre los machos CA y CM en las pruebas tres, cuatro, cinco y siete, siendo este último grupo el de valores más altos ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 12**). En el caso de los machos CA-Perineal se encontró que el índice de intromisión fue significativamente menor comparado con el de los machos CM todas las pruebas copulatorias ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 12**). Finalmente, se comparó el índice de intromisión de los machos CA-Corporal contra la de los machos CM, no hubo diferencias significativas. Así mismo, este primer grupo experimental se comparó contra los CA y se observaron diferencias significativas en las pruebas tres, cuatro y cinco ($p < 0.05$; ANOVA). De igual manera, se realizaron

comparaciones entre los machos CA-Corporal y CA-Perineal y se observó diferencias significativas en las pruebas tres, cuatro y cinco siendo este último grupo el de menores valores ($p < 0.05$; ANOVA; **Fig. 12**).

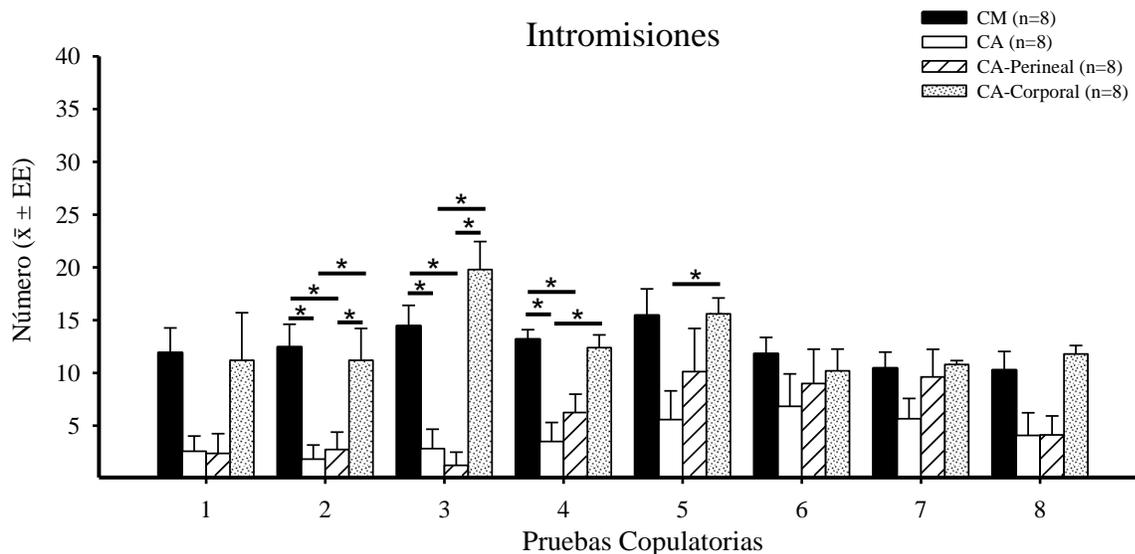


Fig. 11 Número de intromisiones durante las ocho pruebas copulatorias. Existen diferencias significativas entre los grupos CA y CA-Perineal vs CM y CA-Perineal desde la segunda hasta la cuarta prueba copulatoria. Así mismo difieren los CA-Perineal de los CA en la quinta prueba copulatoria. $\bar{x} \pm EE$. Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA $*p < 0.05$, seguido de la prueba *post-hoc* Tukey.

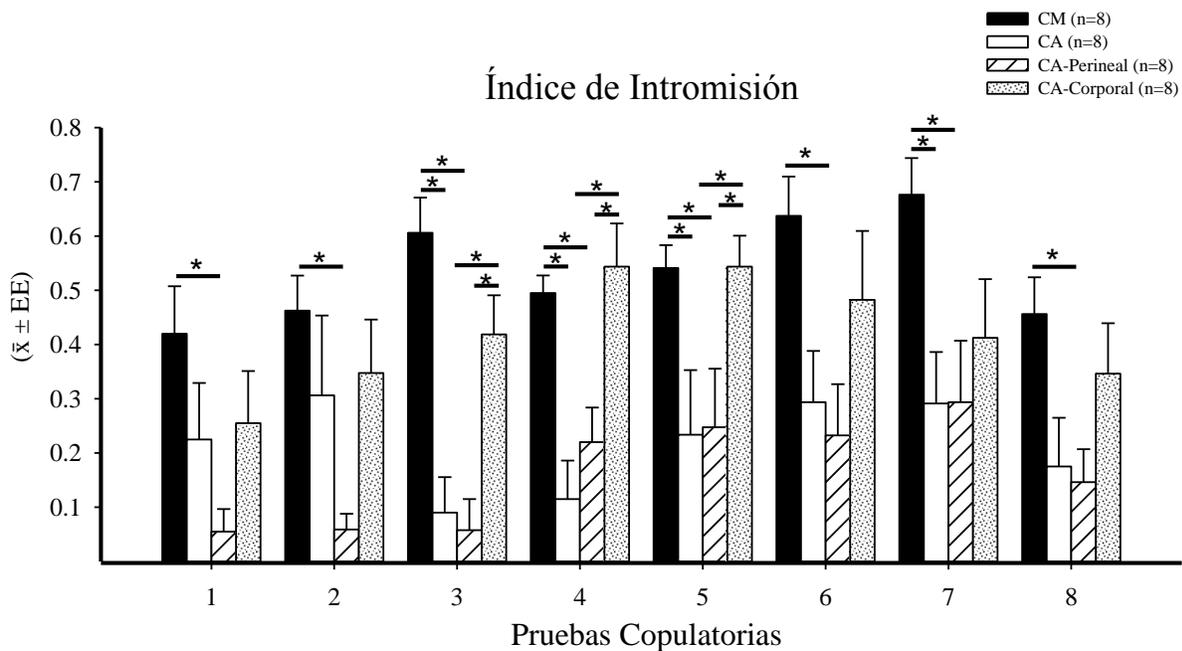


Fig. 12 Índice de intromisión. Existen diferencias significativas entre el grupo CA vs CM en las pruebas tres, cuatro cinco y siete. Así como entre los machos CA-Perineal y los CM en todas las pruebas copulatorias. Los machos CA-Corporal mostraron diferencia contra los CA y CA-Perineal en las pruebas tres, cuatro y cinco. $\bar{x} \pm EE$, Prueba estadística entre grupos por prueba de ANOVA * $p < 0.05$ seguida de la prueba *post-hoc* Tukey.

6.4 Espermatobioscopía Indirecta en la Octava Prueba Copulatoria

Se evaluaron los parámetros espermáticos de los machos que ejecutaron el patrón conductual de eyaculación en la octava prueba copulatoria. Cabe resaltar que ningún macho CA cumplió el criterio para evaluar sus parámetros espermáticos, por lo tanto no se obtuvieron datos de estos. Así mismo, se observa que la cuenta espermática de los machos CM y CA-Corporal es significativamente mayor que la de los CA-Perineal ($p < 0.05$ ANOVA). Respecto al peso y largo del tapón seminal no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales. En contraste, el ancho del tapón seminal de los machos CM y CA-Corporal fue significativamente entre sí ($p < 0.05$ ANOVA, **Tabla 4**).

Tabla 4. Parámetros espermáticos de la octava prueba copulatoria de ratas macho sexualmente expertos

Parámetros	Grupos Experimentales			
	CM (n=8)	CA (n=0)	CA-Perineal (n=2)	CA-Corporal (n=8)
Semen				
Cuenta espermática (1x10 ⁶)	40.95±3.29 ^a	-	9.75±3.25 ^{ab}	44.50±7.20 ^b
Tapón seminal				
Peso (g)	121.55±6.43	-	143.00±4.00	121.55±5.31
Largo (mm)	12.79±0.86	-	13.40±0.30	12.00±0.79
Ancho (mm)	5.80±0.18 ^a	-	4.95±0.65	4.75±0.36 ^a

$\bar{x} \pm EE$, Prueba de ANOVA seguida de la prueba *post hoc* Tukey ^a^bp<0.05

7. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio confirman que la separación total de la madre y de los hermanos de camada durante el periodo postnatal predestete, mediante el sistema de crianza artificial, en la rata macho, afecta de manera permanente la expresión de la conducta copulatoria masculina (latencia de monta e intromisión, y número de intromisiones). El reemplazo de estimulaciones táctiles corporales, pero no perineales, durante el aislamiento, previenen el efecto del aislamiento.

7.1 Crianza Artificial

Los resultados obtenidos refuerzan la propuesta de que el paradigma de crianza artificial es una herramienta experimental útil, adecuada y segura para evaluar la privación del cuidado materno y del contacto con los hermanos de camada en el periodo postnatal pre-destete sobre el desarrollo de conductas sociales. Asimismo, permite evaluar de manera específica la participación de cada uno de los estímulos proveniente de la interacción madre-hijos. Por ejemplo, en este caso en particular, cuando se priva a las crías de todos los estímulos sensoriales y sociales en este periodo de vida, la mayoría de los machos no alcanzan a desplegar el patrón eyaculatorio, pero cuando se les reemplazan los estímulos táctiles corporales, pero no perineales, los efectos de la privación se previenen (**Tablas 1 y 2**). Estos resultados son similares a los encontrados en otros estudios (Melo y cols. 2006, 2009; Gonzalez y cols. 2001; Fleming y cols. 2002). Además, a diferencia de otros modelos animales utilizados para evaluar la participación del cuidado materno en el desarrollo del sistema nervioso (Hull y cols. 1984, Akbari 2008, Rhees 2001), en este modelo los animales no sufren desnutrición, ni estrés crónico (Lomanowska y cols. 2011). Como se puede observar en la **Fig. 6**, el peso corporal de las crías CA de este estudio fue similar al de las criadas por su madre (CM). Así mismo, recientemente se ha descrito que los niveles de corticosterona en respuesta a un estímulo estresante (inyección subcutánea de solución salina) a las crías CA es similar al de las crías CM (Lomanowska y cols. 2011). Por lo tanto, podemos descartar la posibilidad de que la desnutrición y/o el estrés pudieran influir sobre los datos obtenidos.

Aunque los resultados del presente estudio no son los primeros en sugerir que la experiencia social temprana a través del cuidado materno participa en el desarrollo de la conducta copulatoria masculina en la rata, son los primeros en evaluar, de manera sistematizada, la responsividad copulatoria de machos aislados por largo período de tiempo (8 pruebas) (**Tabla 1**).

Bajo condiciones de laboratorio, se sabe que las ratas machos adultos adquieren experiencia copulatoria con hembras ovariectomizadas pretratadas con estradiol y progesterona con tan solo cuatro pruebas consecutivas (Lucio y cols. 2013). Estos criterios conductuales coinciden con lo encontrado en los machos CM de este estudio. Es decir, todos los machos CM realizaron conductas copulatorias durante todas las pruebas e incluso la mayoría de ellos (7/8) ejecutaron el patrón conductual de eyaculación a partir de la segunda prueba. En contraste, algunos de los machos CA no ejecutaron patrones copulatorios y la mayoría solamente realizó montas, o montas e intromisiones sin eyacular, durante cada una de las 8 pruebas copulatorias. Incluso, solo dos machos CA ejecutaron el patrón conductual de eyaculación aunque no fueron en las cuatro últimas pruebas como para considerarlos sexualmente expertos (**Tablas 1, 2 y 3**). A pesar de esto, el aislamiento no afectó la latencia de la conducta de eyaculación (en los machos que expresaron la conducta), aunque si el porcentaje de machos que ejecutan tal conducta. Algunos de los datos anteriores coinciden con datos de otros trabajos, por ejemplo en los estudios de separación materna parcial se ha encontrado que esta manipulación experimental altera negativamente la expresión de la conducta copulatoria de las ratas macho (Rhees y cols. 2001, Forsberg y cols. 1985; Greisen y cols. 2005). Rhees y cols. (2001) encontraron que los machos adultos ratas que sufrieron separación materna parcial (6 hrs/día, durante los días 2 al 10 postnatal) presentaban incremento significativo en la latencia de la primera monta y la primera intromisión, y una significativa reducción en el porcentaje (50%) de machos que mostraron el patrón conductual eyaculatorio, en comparación con los machos CM. Por otro lado, Forsberg y cols. (1985) encontraron que las crías que fueron separadas de su madre por 24 hrs cada tercer día, durante los días postnatales 5 al 55, mostraron un incremento significativo en la latencia para eyacular, y estos machos sólo eyaculaban en el 57% de las pruebas copulatorias. En contraste con los anteriores resultados, Greisen y cols. (2005) encontraron que machos que fueron separados de su madre por 180 minutos diarias durante los días 2-14 postnatal, presentaron

reducción en la latencia de monta e intromisión en comparación con las latencias de los machos que sufrieron un protocolo experimental que induce cambios positivos neurales en la progenie (“manipulación temprana”; separación materna por 15 minutos al día). Cabe señalar que estos estudios presentan inconsistencia en el modelo utilizado y en el diseño experimental. Por ejemplo, se realizaron dos o tres pruebas copulatorias, insuficientes para evaluar la conducta de los animales. Además, la separación materna parcial, es considerada un modelo temprano de estrés crónico (McCormick 1998), más que un modelo de privación materna. El hecho que las crías permanecieran lejos de su madre por 6 hrs (Rhees y cols. 2001) ó 24 hrs cada tercer día (Forsberg y cols. 1985), disminuyó el número de amamantamientos al día (la rata madre amamanta a sus crías cada 2-3 hrs; McCormick y cols. 1998). Estos estudios sugieren que el estrés crónico temprano y/o la desnutrición, pero no el cuidado materno, durante el período postnatal modifica sustancialmente la expresión de la conducta copulatoria de la rata macho. Lo anterior refuerza la hipótesis de que la privación del cuidado materno temprano, a través de la crianza artificial, afecta negativamente el desarrollo de la conducta copulatoria. Esto porque las crías sometidas al sistema de crianza artificial mostraron pesos corporales similares a los encontrados en las crías criadas por su madre (CM).

La posible explicación de los efectos encontrados sobre la latencia de eyacuación en los machos CA es que la crianza artificial disminuye la motivación sexual y dificultar la erección peneana. Esto porque la mayoría de los machos CA, en comparación con los machos CM, tardaron más tiempo en iniciar el encuentro copulatorio en al menos 3 pruebas conductuales (pruebas 2, 3 y 6), y requirieron mayor tiempo para presentar la primera intromisión (pruebas 4, 6 y 7) (Fig. 6 y 7). Tomando en cuenta que la latencia de monta puede proporcionar una medición adecuada de la motivación copulatoria (menor latencia de monta es igual a mayor motivación), podríamos sugerir que los machos CA tienen baja motivación copulatoria respecto a los machos CM (Lucio y Tlachi-López 2008). Aunque, también podrá ser explicada que la alta latencia de monta de los machos CA se deba a que estos muestran alteraciones en los procesos de habituación al ambiente provocando así, que se ocupen principalmente en explorar el entorno, tal como lo mencionan Lovic y Fleming (2004) y Melo y cols. (2009). En un estudio previo de nuestro laboratorio, se mostró que el nervio sural de machos adultos CA tienen alteradas sus propiedades electrofisiológicas, específicamente

presentan reducción en el potencial de acción compuesto, así como menor grosor en las capas de mielina de los axones (Segura y cols. 2014). Este nervio es exclusivamente sensitivo (Churchill 2008, Testut y cols. 1983, Pringle y cols. 1974) e inerva el borde dorso-lateral de la pierna y del dorso lateral del pie (Nieto y cols. 2009). Esto nos hace pensar que la latencia de monta incrementada, pudiera deberse a las alteraciones en otros nervios periféricos que también tienen fibras sensoriales, tales como el pélvico y el pudendo (Lucio y cols. 1994). Se sabe que éstos inervan piel perineal, escrotal y al pene. De modo que si las fibras sensoriales, de estos, no conducen adecuadamente la información durante las montas e intentos de intromisión la excitación estaría disminuida dificultando presentar la erección. Si la información sensorial es insuficiente no se activarían el número necesario de fibras autonómicas del pélvico ni del pudendo necesarias para lograr la erección y tampoco las fibras somáticas del pudendo para contraer a los músculos isquiocavernosos -necesarios para la erección- y músculos bulboesponjosos -necesarios para la eyaculación-, (Holmes y cols. 1991). Esta suposición se refuerza con el número disminuido de intromisiones (pruebas 2-4) de los machos CA vs los machos CM (**Fig. 10 y 11**). Por lo tanto, con pocas intromisiones alcanzar el umbral de eyaculación es difícil, lo que explica también porque los machos CA muy pocas veces eyaculan (**Tablas 1, 2 y 3**). Así mismo el bajo índice de intromisión que mostraron los machos CA sugiere que tienen problemas erección y esto, de igual manera, nos podría explicar el bajo porcentaje de machos que ejecutaron el patrón conductual de eyaculación (**Tablas 2 y 3; Fig. 12**).

Retomando los datos observados en los machos CA sobre el menor número de intromisiones y además la mayor latencia de intromisión en las pruebas 4, 5 y 7 respecto los machos CM (**Fig. 8 y 11**) podemos contrastar con lo mostrado por el grupo de la Dra. Fleming de la Universidad de Toronto. Ellos encontraron que los machos que habían sido separados de su madre y criados artificialmente, presentaban deficiencias en la expresión de los reflejos peneanos y tenían menor longitud dendrítica en las neuronas del núcleo bulbocavernoso (Lenz y cols. 2008). Este núcleo es el encargado de regular los reflejos peneanos necesarios para la intromisión peneana y en la expulsión seminal (Breedlove y Arnold 1980, McKenna y Nadelhaft 1986, Breedlove y Hampson 2002 y Lenz y cols. 2008). Esto nos hace especular que probablemente los machos CA de este estudio presentaban alteraciones en los reflejos peneanos durante la cópula. Por lo que sería interesante determinar la morfología dendrítica

de las neuronas del núcleo bulboesponjoso y del APOM de los machos CA después de 4 u 8 pruebas copulatorias para correlacionar ambos fenómenos.

Cabe resaltar que en la octava prueba copulatoria la latencia de monta, intromisión y eyaculación de todos los grupos experimentales aumentó, por lo tanto no se apreciaron significancias entre los grupos experimentales. Esto podría deberse a que los intervalos entre las pruebas copulatorias fueron de 3 días, lo que quizá se reflejó en la octava prueba copulatoria como posible fatiga de los machos. A pesar la acumulación de pruebas en la séptima prueba se observó que los parámetros copulatorios como la latencia de monta e intromisión y el número de intromisiones mejoraron conforme los machos CA fueron expuestos a más pruebas copulatorias (**Fig. 7, 8 y 11**). Así que, lo anterior rechaza la primera hipótesis del presente trabajo de que el incremento en el número de exposiciones hacia hembras receptoras podría revertir el efecto de la CA.

Otros investigadores han encontrado que los machos que han sido criados artificialmente presentan menor inmunoreactividad a c-fos en el área preóptica media (APOM), que regula la expresión de la conducta copulatoria masculina (Akbari y cols. 2008). Sin embargo, esos machos tuvieron valores similares en sus parámetros copulatorios a los de los machos CM. En este caso la evaluación fue de una prueba de 40 minutos utilizando diferentes hembras receptoras; cabe mencionar que estos autores usaron ratas Sprague Dawley, cepa que conductualmente es diferente a la Wistar, que nosotros utilizamos. Es posible que a pesar de menor cantidad de c-fos en el APOM esto no influya en la expresión de la conducta copulatoria.

Respecto a los parámetros espermáticos no pudo realizarse ninguna estadística dado que los machos CA no ejecutaron el patrón conductual de eyaculación en la última prueba copulatoria, que estaba prevista para la obtención de fluido seminal y tapón seminal. La cuenta espermática de los machos CA-Perineal fue significativamente menor que la cuenta de los CM y CA-Corporal (**Tabla 2**). La cuenta de CA-Corporal y de los CM fue similar. Será necesario realizar más experimentos con los machos CA considerando el criterio de que en cualquiera de las pruebas copulatorias que estos machos eyaculen, deberá obtenerse el eyaculado para realizar el estudio espermatooscópico correspondiente.

7.2 Efecto de la Estimulación Táctil

La deficiente expresión de la conducta copulatoria masculina de los machos CA (**Tabla 1**) muy probablemente se debió a que no recibieron de la madre los estímulos sensoriales táctiles (lamido corporal y perineal) durante el aislamiento. Explicación que coincide con innumerables trabajos destinados a determinar el papel de los estímulos sensoriales táctiles durante períodos críticos del desarrollo en modelos animales y en el humano (ver Fleming y cols. 2002). Los trabajos de los 80s de Celia Moore (Moore 1984, 1986, Birke y Sadler 1987) muestran que las madres proveen mayor cantidad de estimulación táctil perineal a las crías machos que a las crías hembras, durante las primeras dos semanas postnatales, independientemente de la cepa (Moore y Morelli 1979, Moore y cols. 1996, Moore 1981). Lo que la hace sugerir que la cantidad de estímulos táctiles en la región perineal incide en el dimorfismo sexual (cerebral y conductual) de los machos. Cuando se provoca anosmia a las madres mediante el bloqueo de las fosas nasales con un catéter (Moore, 1984) o por la aplicación de sulfato de zinc en las fosas nasales (Moore y Power 1992, Moore y cols. 1992), la cantidad de estímulos perineales a las crías macho se reduce. Cuando estos machos son adultos y se les evalúa la conducta copulatoria se observa que presentan incrementada la latencia de eyaculación y los intervalos inter-intromisión vs los valores obtenidos de los machos de madres intactas (Moore 1984). Se observa también que las crías macho impregnadas con agua de colonia en la región perineal reciben menor cantidad de lamidos perineales. Esta experiencia sensorial se ve reflejada en una menor ejecución copulatoria masculina (Birke y Sadler, 1987). Estos datos sugieren que la estimulación perineal de los machos en etapas tempranas de la vida, es importante para el desarrollo de la conducta copulatoria en la rata macho. Por tal razón, en la presente tesis se consideró prevenir el efecto negativo del aislamiento sobre la conducta copulatoria masculina, fue así que a un grupo de machos criados artificialmente se les proveyó de estimulación táctil perineal o corporal. Se observó que ninguno de los machos que recibieron estimulación perineal mostraron el patrón de eyaculación en las primeras dos pruebas, y a partir de la tercera prueba, el porcentaje de machos que desplegó dicho patrón se fue incrementando hasta el 50% en la prueba 6, aunque en las últimas dos pruebas, el porcentaje disminuyó a 25% (**Tabla 3**). Los resultados de los

machos CA-perineal no apoyan lo propuesto por Celia Moore ni nuestra propuesta *i.e.*, que la estimulación perineal durante el periodo postnatal incide en el desarrollo de la conducta copulatoria masculina. Sin embargo, esto podría deberse a que la cantidad de estímulos táctiles perineales que proporcionamos no fue suficiente (5 veces al día). Nuestros resultados de separación maternal total coinciden con los de machos que sufrieron separación materna parcial. En ambos casos solo el 50% de los machos desplegaron el patrón eyaculatorio, probablemente debido a que éstos recibieron menor estimulación perineal (Rhees y cols. 2001). En contraste, todos los machos que recibieron estimulación corporal (5 veces al día durante el aislamiento) mostraron el patrón eyaculatorio en las últimas 6 pruebas de las 8 pruebas, porcentaje similar a los machos CM (**Tablas 2 y 3**). Esto sugiere que la estimulación corporal es más importante que la perineal para el despliegue de la conducta eyaculatoria. Sin embargo, debemos considerar que estos machos también recibieron la estimulación perineal mínima para inducir la micción y defecación. Así, es posible que la estimulación conjunta corporal y perineal haya favorecido la expresión copulatoria de los machos. Se sabe que la estimulación perineal mínima es insuficiente para prevenir los efectos negativos del aislamiento (Melo y cols. 2006, 2009, Fleming y cols. 2002, González y cols. 2001).

Es importante mencionar que la estimulación corporal a los machos CA-Corporal previno la mayoría de los efectos del aislamiento sobre los parámetros específicos, es decir, las latencias de monta e intromisión, y el número de montas fue similar a lo encontrado en los machos criados por su madre (CM). En contraste, los machos que recibieron periodos de estímulo perineales no mejoraron sus parámetros copulatorios ya que sus parámetros son similares al de los machos CA (**Figs. 7, 8, 10 y 11**). Esto nos sugiere que las crías macho requieren de estímulos sensoriales en todo el cuerpo durante el periodo postnatal predestete para que estos, cuando adultos, ejecuten patrones conductuales copulatorios eficientes. Estos resultados coinciden con los de Lenz y cols. (2008), quienes encontraron que la estimulación corporal (4-8 veces al día) previno los efectos negativos del aislamiento sobre los reflejos peneanos y sobre la arborización dendrítica de las neuronas del núcleo bulbocavernoso. Además, Akbari y cols. (2008), previnieron los efectos del aislamiento sobre la inmunoreactividad a c-fos en el APOM al proveer estimulación corporal a los machos CA durante el aislamiento. Encontraron que los machos CA-Corporal tenían similar número de células inmunoreactivas a c-fos en el APOM al de los machos CM. No obstante, la conducta

copulatoria de los machos CA fue similar al de los machos CM. Esto probablemente se haya debido a que sus machos CM desde el inicio no mostraron una conducta similar a lo que ya ha sido reportado previamente (Lucio y Tlachi-Lopez 2008, Larsson 1956) (sólo el 66% de éstos eyacularon). Además de una enorme variabilidad en los parámetros copulatorios, probablemente esto se debió a que era la primera prueba copulatoria de estos machos por lo tanto estos eran sexualmente inexpertos.

Por otro lado, cabe señalar que los machos CA no mostraron el patrón de eyaculación a pesar de haber sido expuestos a 8 pruebas copulatorias, lo cual sugiere que el efecto negativo del aislamiento sobre dicha conducta es permanente (**Tablas 1, 2 y 3**). Esto coincide con lo encontrado en los otros grupos de machos aislados, *i.e.*, el porcentaje de machos CA-Perineal fue entre 12 y 50%. Lo mismo ocurrió con los machos CA-Corporal, que desde el inicio mostraron un buen desempeño copulatorio, como ocurre con los machos CM. Por otro lado, los datos de los parámetro copulatorios mejoraron levemente a través de las pruebas, sin embargo, el índice de intromisión mostró que en los grupos de re-emplazo táctil, fue significativamente menor que el obtenido por los machos CM. Este dato refuerza la hipótesis que los estímulos táctiles y sociales provenientes de la madre y de los hermanos de camada durante el período postnatal predestete son esenciales en el desarrollo de la conducta copulatoria masculina en la rata macho.

Finalmente, se encontró que la cuenta espermática de los machos CA-Perineal fue alrededor de 9.75×10^6 mientras que en los machos CM fue de 40.95×10^6 (**Tabla 4**) Esto podría deberse no a la producción espermática sino a alguna falla en la expulsión seminal considerando que las motoneuronas del núcleo bulbocavernoso espinal tiene poca arborización dendrítica, según otros autores como Lenz y cols. (2008). El grupo CA-Corporal mostró similar cuenta espermática (44.50×10^6) a la de los machos CM. El peso y longitud del tapón seminal fue similar en todos los grupos experimentales con valores parecidos a los de Lucio y Tlachi-López (2008).

8. CONCLUSIONES

La separación materna total y crianza artificial durante el período postnatal pre-destete en la rata macho, disminuye drásticamente la expresión del patrón conductual de eyaculación en la mayoría de los machos y modifica negativamente la expresión de los parámetros conductuales copulatorios (latencia de monta e intromisión, y número de intromisiones). Además, la estimulación corporal, pero no perineal, durante el aislamiento, previene el efecto de la crianza artificial sobre la expresión del patrón copulatorio, así como sobre algunos parámetros copulatorios. El incremento en el número de oportunidades copulatorias no revirtió el efecto del aislamiento sobre el despliegue del patrón conductual de eyaculación, ni sobre el Índice de Intromisión, a pesar de que observó una mejoría de algunos parámetros copulatorios en las últimas pruebas.

9. PERSPECTIVAS

Debido a que el aislamiento afecta negativamente la expresión de la conducta copulatoria masculina, es válido preguntarse ¿Cuáles son los mecanismos involucrados?

- 1) ¿Sistema neuroendócrino? a) determinar los niveles basales y postcópula de testosterona en sangre, b) determinar la densidad de los receptores a testosterona en el APOM, y demás áreas involucradas en la regulación de la conducta copulatoria.
- 2) ¿El patrón motor del tren posterior del macho? a) determinar los movimientos pélvicos durante la cópula con un arnés conectado a un electrofisiógrafo.

10. REFERENCIAS

- Aguilar C. 2012. Efecto del aislamiento social y maternal durante el periodo postnatal, sobre el desarrollo de la conducta sexual y pseudo-maternal en la rata macho Wistar adulta. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Akbari E, Budin R, Parada M y Fleming AS. 2008. The effects of early isolation on sexual behavior and c-fos expression in naive male Long-Evans rats. *Developmental Psychobiology*, 50: 298-306.
- Beach F y Jordan L. 1956. Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 8: 1121-1133.
- Benson GS. 1988. Male sexual function: erection, emission and ejaculation. En: *The physiology of reproduction*. Knobil E Neill J (eds.) Editorial: Raven, New York, 1121-1139.
- Birke LI y Sadler D. 1987. Differences in maternal behavior of rats and the sociosexual development of the offspring. *Developmental Psychobiology*, 20:85-99.
- Blumstein DT, Ebensperger LA, Hayes LD, Vásquez RA, Ahern TH, Burger JR, Dolezal AG, Dosmann A, González-Mariscal G, Harris BN, Herrera EA, Lacey EA, Mateo J, McGraw LA, Olazábal D, Ramenofsky M, Rubenstein DR, Sakhai SA, Saltzman W, Sainz-Borgo C, Soto-Gamboa1 M, Stewart ML, Wey1 TW, Wingfield JC y Young LJ. 2010. Toward an integrative understanding of social behavior: new models and new opportunities, *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4 (34) 1- 9.
- Breedlove SM y Arnold AP. 1980. Hormone accumulation in a sexually dimorphic motor nucleus of rat spinal cord. *Science*, 210: 564-566.
- Breedlove SM y Hampson E. 2002. Sexual differentiation of the brain and behavior. En: Beker JB Breedlove SM Crews D McCarthy (eds.) Editorial: *Behavioral Endocrinology*. Cambridge.
- Chatterjee S, Jarvis-Kay J, Rengarajan T, Lawrence IG, McNally PG y Davies MJ. 2007. Glargine versus NPH insulin: efficacy in comparison with insulin aspart in a basal bolus regimen in type 1 diabetes the glargine and aspart study (GLASS) a randomized cross-over study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 77: 215-22.

- Churchill Livingstone. 2008. The Anatomical Basis of Clinical Practice. Gray's Anatomy 39th. Editorial: American Journal of Neuroradiology. London.
- Clément P y Giuliano F. 2011. Physiology of ejaculation. En: Cancer and Sexual Health. Current Clinical. Urology. Mulhall P y cols. (eds.) Editorial: Springer Science Business Media.
- Dewsbury D A. 1969. Copulatory behaviour of rats (*Rattus norvegicus*) as a function of prior copulatory experience. *Animal Behaviour*, 17: 217–223.
- Dulce-Madeira M y Lieberman AR. 1995. Sexual dimorphism in the mammalian limbic system. *Progress in Neurobiology*, 45: 275-233.
- Fleming AS, Lovic V, Gonzalez A, Ree S, Kraemer B y Melo AI. 2002. Mother begets mothering: the transmission of behavior and its neurobiology across generations. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73: 61-75.
- Forsberg G, Abrahamsson K, Söderstenand P y Eneroth P. 1985. Effects of restricted maternal contact in neonatal rats on sexual behaviour in the adult. *Malnutrition and Sexual Behavior*, 104: 427-431.
- García-Castells E. 2002. Motivaciones sociales. En: Motivación y Conducta: y sus Bases Biológicas. González MH (ed.). Editorial: Manual Moderno, 20: 385-404.
- García-Leal A, Wegenberg J y Cadevall M. 2005. Sesgo ideológicos en las teorías sobre la evolución del sexo. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gonzalez A, Lovic V, Ward G.R, Wainwright PE y Fleming AS. 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology*, 38: 11-32.
- González-Mariscal G y Kinsley CH. 2009. From indifference to ardor: The onset, maintenance, and meaning of the maternal brain. *Hormones, Brain and Behavior*, 1: 109-136.
- González-Mariscal G y Melo AI. 2012. Parental behavior. En: Neuroscience in the 21st Century. Pfaff W (ed.) Editorial: Springer Verlag. EUA.
- Gorski RA, Gordon JH, Shryne JE y Southam AM. 1978. Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the brain. *Brain Research*, 148: 333-346.

- Greisen MH, Bolwig TG, Husum H, Nedergaard P y Wörtwein G. 2005. Maternal separation affects male rat copulatory behaviour and hypothalamic corticotropin releasing factor in concert. *Behavioral Brain Research*, 30: 367-375.
- Hall SF. 1998. Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Neurobiology*, 12: 129-162.
- Harlow CM. 1986. *From Learning to Love: The Selected Papers of H.F. Harlow*. Editorial: Hardcover. New York, 1905-1981.
- Hart BL y Melesse d' Hospital PY. 1983. Penile mechanisms and the role of striated penile muscles in penile reflexes. *Physiology and Behavior*, 31: 807-813.
- Holmes GM, Chaple WD, Leipheimer RE y Sachs BD. 1991. Electromyographic analysis of male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiology and Behavior* 49: 1235-1246.
- Hull EM y Dominguez JM. 2007. Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52: 45-55.
- Hull EM, Mesisel RL y Sachs BD. 1984. Male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 1: 3-17.
- Keller DB. 1988. Sexually dimorphic behaviors. *Annual Review of Neuroscience*, 11: 225-251.
- Larsson K. 1956. Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. En: *Acta Psychologica*. Gotheburg A Wiksell (eds.) Editorial: Stockholm pp.1-267.
- Leipheimer RE y Sachs BD. 1988. Gabaergic regulation of penile reflexes and copulation in rats. *Physiology and Behavior*, 42: 351-357.
- Lenz KM, Graham MD, Parada M, Fleming AS, Sengelaub DR y Monks DA. 2007. Tactile stimulation during artificial rearing influences adult function and morphology in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Developmental Neurobiology*, 68: 542-57.
- Lévy F, Melo AI, Galef BG, Madden M y Fleming AS. 2003. Complete maternal deprivation affects social, but not spatial, learning in adult rats. *Developmental Psychobiology*, 43: 177-191.

- Lomanowska AM, Chatterjee-Chakraborty M, Steiner M y Kraemer GW. 2011. Effects of motherless rearing on basal and stress-induced corticosterone secretion in rat pups. *Stress*, 14: 685-96.
- Lovic V y Fleming AS. 2004. Artificial-rearing 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.
- Lovic V, Fleming AS y Fletcher PJ. 2006. Early life tactile stimulation changes adult rat responsiveness to amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 84: 497-503.
- Lovic V, Palombo DJ y Fleming AS. 2011. Impulsive rats are less maternal. *Developmental Psychobiology*, 53: 13-22.
- Lucio RA y Tlachi-López JL. 2008. Análisis de la Cópula y el Eyaculado de la Rata Albina (*Rattus norvegicus*). Manual de Laboratorio. Editorial: Góngora Ediciones. pp 1-48.
- Lucio RA, Manzo J, Martínez-Gómez M, Sachs BD y Pacheco P. 1994. Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. *Physiology and Behavior*, 55: 241-246.
- Lucio RA, Rodríguez-Piedracruz V, Tlachi-López JL, García-Lorenzana M y Fernández-Guasti A. 2014. Copulation without seminal expulsion: the consequence of sexual satiation and the Coolidge effect. *Andrology*, 2:450-457.
- Lucio RA, Tlachi-López JL, Fuentes-Farías A, Jiménez-Trejo F y Gutiérrez-Ospina G. 2013. Anatomía urogenital masculina: Una perspectiva eco-morfofisiológica. En: Aparato Urogenital. De la Biología a la Fisiopatología. Cruz Y Eguibar JR (eds.) Editorial: Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Lucio RA, Tlachi-López JL, López AA, Zempoalteca R y Velázquez-Moctezuma J. 2009. Analysis of the Parameters of the Ejaculate in the Laboratory Wistar Rat: Technical Description. Editorial: Veterinaria México, 40: 405-415.
- Lucio RA, Tlachi-López JL, Zempoalteca R y Moctezuma JV. 2006. Erección y eyaculación: participación de los músculos perineales estriados y glándulas sexuales accesorias. En: Neurobiología Experimental de la Conducta: Fundamentos y Tópicos Afines. Quintanar JL (ed.) Editorial: Universidad Autónoma de Aguascalientes, 181-197.

- Marson L y McKenna KE. 1992. The identification of a brainstem site controlling spinal sexual reflexes in male rats. *Brain Research*, 515: 303-308.
- Matthews MK y Adler NT. 1978. Systematic interrelationship of mating, vaginal plug position, and sperm transport in the rat. *Physiology and Behavior*, 20: 303-309.
- McClintock MK, Anisko JJ y Adler NT. 1982. Group mating among Norway rats II. The social dynamics of copulation: competition, cooperation, and female rat. *Animal Behaviour*, 30: 410-425.
- McCormick CM, Kehoe P y Kovacs S. 1998. Corticosterone release in response to repeated, short episodes of neonatal isolation: Evidence of sensitization. *Developmental Neuroscience*, 16: 175-185.
- McKenna KE, Nadelhaft I. 1986. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *Journal of Comparative Neurology*, 248: 532-49.
- Melo AI, Hernández-Curiel M y Hoffman KL. 2009. Maternal and peer contact during the postnatal period participate in the normal development of maternal aggression, maternal behavior, and the behavioral response to novelty. *Behavioural Brain Research*, 201: 14-21.
- Melo AI, Lovic V, Gonzalez A, Madden M, Sinopoli K y Fleming AS. 2006. Maternal and littermate deprivation disrupt maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: Tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effects. *Developmental Psychobiology*, 48: 209-219.
- Messer M, Thoman EB, Terrassa AG y Dalman PR. 1969. Artificial feeding of infant rats by continuous gastric infusion. *Journal of Nutrition*, 98: 404-410.
- Moore CL y Morelli GA. 1979. Mother rats interact differently with male and female offspring. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93: 677-684
- Moore CL y Power KL. 1992. Variation in maternal care and individual differences in play, exploration, and grooming of juvenile Norway rats offspring. *Developmental Psychobiology*, 25: 165-82.
- Moore CL y Samonte B. 1986. Preputial glands of infant rats (*Rattus norvegicus*) provide chemo-signals for maternal discrimination of sex. *Journal of Comparative Psychology*, 100: 76-80.

- Moore CL y White RH. 1996. Sex differences in sensory and motor branches of the pudendal nerve of the rat. *Hormones and Behavior*, 30: 590–599.
- Moore CL, Dou H y Juraska JM. 1992. Maternal stimulation affects the number of motor neurons in a sexually dimorphic nucleus of the lumbar spinal cord. *Brain Research*, 572: 52-56
- Moore CL. 1981. An olfactory basis for maternal discrimination of sex of offspring in rats (*Rattus norvegicus*). *Animal and Behavior*, 29: 383-386.
- Moore CL. 1984. Maternal contribution to the development of masculine sexual behavior in laboratory Rats. *Developmental Psychobiology*, 17: 347-356.
- Moralí G. 1991. Aspectos sobre la regulación neuroendocrina del comportamiento sexual masculino en mamíferos. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Domínguez R (ed.) Editorial: Miguel Ángel Porrúa, 297-321.
- Nakamura K, Kikusui T, Takeuchi Y y Mori Y. 2003. The influence of early weaning on aggressive behavior in mice. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65: 1347-1349
- Nieto JL, Vergara-Amador E y Amador JA. 2009. Nervio sural: estudio anatómico y consideraciones clínicas. *Colombia Médica*, 40: 252-258.
- Nowak MA. 2006. Five rules for the evolution of cooperation. *Science*, 314: 1560-1563.
- Panksepp J. 1981. The ontogeny of play in rats. *Developmental Psychobiology*, 14: 649-652.
- Parra L, García A, Ortiz S, Pérez D, Nájera J, Basurto N, Espinoza V y Rivas R. 2009. Las diferencias anatómicas cerebrales que implican diferencias funcionales (2a de dos partes). *Facultad de Medicina UNAM* 22: 212-218.
- Pattij T, Jong TR, Uitterdijk A, Waldinger MD, Veening JA, Cools AR, Vaj G y Olivier B. 2005. Individual references in male rat ejaculatory behaviour: Searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*, 22: 724-734.
- Pellegrini AD, Dupuis D y Smith PK. 2007. Play in evolution and development. *Developmental Review*, 27: 261-276.
- Potega IM y Einon D. 1989. Aggressive behaviors in adult rats deprived of play-fighting experience as juveniles. *Developmental Psychobiology*, 22: 159-172.
- Pringle R, Protheroe K, Sadhan K, Mukherje. 1974. Entrapment neuropathy of the sural nerve. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 56B: 465-468.

- Reinicsh JM, Ziebma-Davis M y Sanders SA. 1991. Hormonal contributions to sexually dimorphic behavior development in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 16: 213-278.
- Rhees RW, Lephart ED y Eliason D. 2001. Effects of maternal separation during early postnatal development on male sexual behavior and female reproductive function. *Behavioural Brain Research*, 123: 1-10.
- Sachs BD. 1982. Role of striated penile muscles in penile reflex, copulation, and induction of pregnancy in the rat. *Journal of Reproduction and Fertility*, 66: 433-443.
- Segovia S y Guillamón A. 1993. Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain Research Reviews*, 18: 51-74
- Segura B, Melo AI, Fleming AS, Mendoza-Garrido ME, González M, Aguirre-Benitez EI, Hernández-Falcón J y Jiménez-Estrada I. 2014. Early social isolation provokes electrophysiological and structural changes in cutaneous sensory nerves of adult male rats. *Developmental Neurobiology*, 74: 1184-1193.
- Swaab DF y Fliers E. 1985. A sexually dimorphic nucleus in the human brain, *Science*, 228: 1112-1115.
- Testut L, Jacob O y Billet H. 1983. *Compendio de Anatomía Humana*. Barcelona. Editorial: Salvat. Barcelona.
- Tinbergen N. 1963. On aims and methods of ethology. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 20: 410-433.

11. ANEXOS



Otorgan la presente
Constancia

A Carlos E. Aguilar Pérez, Rosa Angélica Lucio y Ángel I. Melo

Por su participación con el cartel "Caracterización de la conducta copulatoria de la rata macho sometida al aislamiento Social temprano "

XVII Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta
Impartido del 3 al 6 de octubre con una duración de 40 horas

Flaxcala, Tlax., a 6 de octubre de 2012

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Coordinador General del Posgrado
en Ciencias Biológicas UAT

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca
Presidente AIBIR



O-1.3 Conducta copulatoria de la rata macho sometida al aislamiento socio-materno durante el periodo post-natal: papel de los estímulos táctiles anogenitales

Aguilar CE (1), Flores-Jiménez M (2), Corona F2 (3), Lucio RA (4), Melo AI (2). (1)Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx), (2) Centro de Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Lab.-Tlaxcala, UATx, (3) Depto. Agrobiología, UATx (4) Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx.

Se ha mencionado que la separación materna y social (SM) durante el período postnatal predestete, deteriora el desarrollo de la progenie. Específicamente, la SM a ratas macho incrementa la agresividad, impulsividad y respuesta al estrés. Además, altera los reflejos peneanos y el patrón copulatorio. Sin embargo, se desconocen cuáles estímulos provenientes de la madre participan en dichos procesos. Dada la propuesta de que los lamidos anogenitales que las crías macho reciben de su madre favorecen la masculinización, en el presente trabajo exploramos si los estímulos táctiles anogenitales durante la SM mejoran el desempeño de los patrones motores copulatorios. Para ello, ratas macho de 4 días de edad fueron: (1) criadas por su madre (CM-Control), (2) separadas del nido y mantenidas dentro de un sistema de crianza artificial (CA-Aisladas) hasta el destete, en el día 22 de edad, (3) criadas artificialmente y provistos de estimulación táctil perineal (CA-Táctil), simulando los lamidos de la madre, 5 veces al día durante 45 segs y (4) criadas por su madre y sometidas a cirugía control (CM-Ciego). Posterior al destete, los machos fueron alojados en jaulas individuales, 2/jaula, y colocados dentro del bioterio. A la edad de 3-4 meses se realizaron 4 pruebas copulatorias, usando hembras con estró inducido hormonalmente. Los resultados mostraron que el porcentaje de machos CM-Ciego/CM-Control (CM) que alcanzaron el criterio de "sexualmente expertos" fue significativamente mayor que el de los machos CA-Aislados (77% vs 23%, respectivamente; $p < 0.05$), y aunque no significativa, que el de los machos CA-Táctil (33%). Durante la última prueba, la latencia de monta y de intromisión de los machos CA-Aislados y machos CA-Táctil fue significativamente mayor que la de los machos CM ($p < 0.04$, todas las comparaciones). Además, los machos CA-Táctiles presentaron menor número de intromisiones que los machos de los otros grupos ($p < 0.05$). Estos resultados corroboran lo previamente encontrado en nuestro laboratorio. El aislamiento materno temprano modifica negativamente la ejecución de la conducta copulatoria masculina. Sin embargo, el re-emplazo de los estímulos táctiles perineales no previene los efectos del aislamiento temprano.

Agradecimientos:

Proyecto apoyado por CONACYT. Becario número 27784.





Universidad Autónoma de Tlaxcala
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



Otorga la presente

CONSTANCIA

A **Carlos Edmundo Aguilar Pérez**
Maestría en Ciencias Biológicas, UAT

Por impartir el seminario

"Evaluación de la conducta copulatoria de la rata macho sometida al aislamiento socio-materno durante el periodo postnatal: papel de los estímulos táctiles"

Tlaxcala, Tlax., septiembre 20 de 2013

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Coordinador General de Posgrado



56

congreso
nacional
de ciencias
fisiológicas

Tlaxcala, Tlax. Septiembre 1-5 2013



Otorga la presente Constancia

A: Aguilar CE, Flores-Jiménez M, Corona F,
Lucio RA, Melo AI

Por la **presentación oral** del trabajo titulado:

Conducta copulatoria de la rata macho
sometida al aislamiento socio-materno durante
el periodo postnatal: papel de los estímulos
táctiles anogenitales

Dra. Gabriela González Mariscal Muriel
Presidenta

Dra. Gina Lorena Quirarte
Secretaría

Dra. Yolanda Cruz Gómez
Tesorera

Evaluación de la conducta copulatoria de la rata macho sometida al aislamiento socio-materno durante el periodo postnatal: papel de los estímulos táctiles.



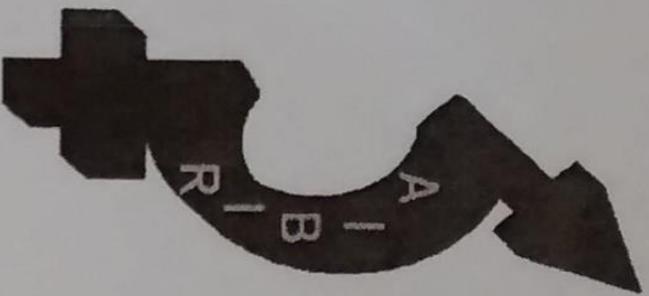
Aguilar C^{1,2}, Lucio RA³, Flórez-Jiménez M¹ Rodríguez-Piedracruz V², y Melo AI¹

¹ Centro de Investigación en Reproducción Animal, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

² Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

En ratas macho, el aislamiento socio-materno temprano, a través de la crianza artificial (CA), altera los reflejos peenanos ex copula. En los experimentos in copula encontramos que se reduce el porcentaje de machos que ejecutan el patrón motor de eyaculación y están muy incrementadas las latencias de monta e intromisión, aun tras cuatro pruebas copulatorias. Consideramos que al duplicar el número de oportunidades copulatorias, a ocho pruebas, y proveyéndoles de estimulación táctil-perineal mejorarían su desempeño copulatorio. Tal estimulación fue en sustitución de los lamidos genitales que la madre proporciona y que, incide en los procesos de masculinización. Para ello, machos de 4 días de edad fueron distribuidos al azar en los siguientes grupos: 1) Criados por su madre (CM), 2) Separados del nido y mantenidos dentro de un sistema de crianza artificial (CA), 3) Mantenidos en CA y provistos de estimulación táctil-perineal, 5 veces al día durante 45 seg. (CA-Perineal), 4) Mantenidos en CA y provistos de estimulación táctil-perineal-corporal, 5 veces al día durante 45 seg. (CA-Perineal-Corporal). Todas las crías fueron destetadas al día 22 de vida y alojadas en cajas colectivas dentro del bioterio. A la edad de 3 meses se iniciaron las pruebas copulatorias con hembras ovariectomizadas con estrógeno inducido hormonalmente. Encontramos que el porcentaje de machos CA y CA-Táctil-Perineal que presentaron el patrón eyaculatorio, en la octava prueba, fue significativamente menor que el de los machos CM y CA-Perineal-Corporal (0% y 25% vs 91% y 100%, respectivamente; $p < 0.05$ en todas las comparaciones). Además, los machos CA presentaron mayor latencia de monta y de intromisión en las pruebas 3, 4 y 6, respecto a los machos CM y CA-Perineal-Corporal, $p < 0.05$. El número de intromisiones de los machos CA fue significativamente menor en comparación con los machos CM y CA-Perineal-Corporal ($p < 0.05$). Estos resultados sugieren que, a pesar de una mayor número de oportunidades copulatorias, los machos CA no mejoraron su desempeño sexual. Además que el reemplazo de la estimulación táctil-perineales-corporal previene algunos de los efectos del aislamiento temprano. Proyecto parcialmente apoyado por CONACYT # 156413 a Dr. Angel I. Melo.



**Academia de Investigación en Biología de la
Reproducción, A.C.**

Otorga la presente
Constancia a

**Aguilar C, Lucio RA, Flórez-Jiménez M,
Rodríguez-Piedracruz V, Melo AI**

Por la participación del trabajo en el cartel:

**“Evaluación de la conducta copulatoria de la ratita macho sometida a
aislamiento socio-materno durante el periodo postnatal: papel de
estímulos táctiles”**

En la XXXIX Reunión Anual de la AIBIR, llevada a cabo
Universidad Veracruzana y Gran Hotel Diligencias
Veracruz, Ver. del 28 al 31 de mayo de 2014

Dr. Edmundo Bonilla González

Presidente de la AIBIR

C. Dr. Iwán Méndez Sánchez

Secretario de la AIBIR



*Neuroscience 2014
November 15-19, 2014
Washington, DC*

Please let this serve to certify that

Carlos E Aguilar Perez, MS

has attended Neuroscience 2014, the 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience at the Walter E. Washington Convention Center in Washington, DC.

Additionally, this attendee has participated in the following scientific session(s) listed below:

Session Type: Poster

Session Title: Developmental Animal Models of Schizophrenia

Session Date/Time: 11/19/2014 8:00:00 AM

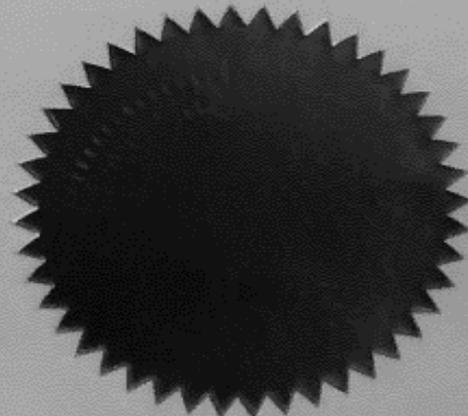
Presentation Number: 707.27

Presentation Title: Effect of early social isolation and artificial rearing in the copulatory behavior of male rats: Role of body and perineal tactile stimulation

The Society for Neuroscience (SfN) is a nonprofit membership organization of basic scientists and physicians who study the brain and nervous system. The Society's primary goal is to promote the exchange of information among researchers. For this purpose, SfN holds a prestigious annual meeting, attended by scientists and researchers from around the globe. It is considered the most important annual forum for the neuroscience research community, offering attendees the opportunity to learn about the latest advances in brain research and to meet and network with their colleagues at top destinations throughout the United States.

Sincerely,

Kyle Hayden, CMP
Assistant Director of Annual Meeting Programs
Society for Neuroscience¹



Date: November 18, 2014