



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Interacciones intracamada, diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y concentración de estradiol en hembras adultas del conejo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Yesenia Fernández Pérez

Codirectores

Dr. Amando Bautista Ortega

Dra. Leticia Nicolás Toledo



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Interacciones intracamada, diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y concentración de estradiol en hembras adultas del conejo

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Yesenia Fernández Pérez

Codirectores

Dr. Amando Bautista Ortega

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Para la realización de esta tesis se contó con el financiamiento de la beca CONACYT para estudios de posgrado (926571 a YFP) y del proyecto DGAPA-UNAM PAPIIT (IN213120 a RH).



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

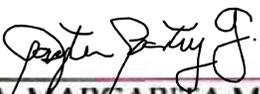
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Yesenia Fernández Pérez** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **"Interacciones intracumada, diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y concentración de estradiol en hembras adultas del conejo doméstico"**.

Sin otro particular, le **enviamos** un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., AGOSTO 28 DE 2020


DRA. ROBYN E. HUDSON


DR. AMANDO BALPISTA ORTEGA


DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ


DR. JORGE VÁZQUEZ PÉREZ


DRA. ESMERALDA GARCÍA TORRES



Los objetivos y procedimientos metodológicos de esta tesis forman parte de un proyecto de investigación más amplio el cual fue evaluado y aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL)



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
CÓDIGO POSTAL 04510
CIUDAD UNIVERSITARIA
CIUDAD DE MÉXICO

Dra. ROBYN ELIZABETH HUDSON
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
P R E S E N T E

Por este conducto se hace constar que el uso y la manipulación de los animales dentro del proyecto de investigación "INTERACCIONES ENTRE HERMANOS Y EL DESARROLLO DE DIFERENCIAS INDIVIDUALES EN CONDUCTA Y FISIOLÓGIA EN DOS ESPECIES DE MAMÍFEROS ALTRICIALES" con número de Folio ID 6311 que usted dirige, ha sido revisado y aprobado por la Comisión para el cuidado y uso de animales de laboratorio en el Instituto de Investigaciones Biomédicas.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Ciudad Universitaria a 26 de Julio del 2019

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Gladis Fragoso González", written over a horizontal line.

DRA. GLADIS FRAGOSO GONZÁLEZ

COORDINADORA DE LA COMISIÓN INSTITUCIONAL DEL USO Y CUIDADO DE
ANIMALES DE LABORATORIO (CICUAL)

ccp Dr. Emilio Rojas, Secretario Académico

Agradecimientos

Al posgrado en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, UATx por la oportunidad de realizar mis estudios de maestría, por brindarme los conocimientos esenciales para llegar a esta etapa, por permitirme y brindarme las facilidades para realizar los experimentos de la presente tesis y por el apoyo recibido.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca recibida durante mis estudios de maestría (926571).

Al comité tutorial: Dra. Robyn Hudson, Dra. Esmeralda García Torres y Dra. María de Lourdes Arteaga Castañeda, por el tiempo dedicado y por sus acertados comentarios y sugerencias en los tutorales y revisión de la tesis.

A mis codirectores, Dr. Amando Bautista Ortega y Dra. Leticia Nicolás Toledo, por ser una excelente guía durante mis estudios de maestría, por su generosidad al brindarme la oportunidad de trabajar con ellos, por sus conocimientos y experiencia científica, por su tiempo, por haber tenido la paciencia necesaria, y por su accesibilidad, apoyo incondicional y confianza para la realización de este trabajo de investigación.

A los doctores miembros del laboratorio de psicobiología del desarrollo, Dra. Verónica Reyes Meza y Dr. José Alfredo Zepeda Zempoaltecatl por sus asesorías, por su tiempo, por sus consejos y sugerencias para la mejora de este trabajo y por su apoyo en la realización de experimentos.

A Laura García y a Carolina Rojas por su apoyo técnico durante el desarrollo de este estudio.

Resumen

Los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) muestran una conducta de marcaje del mentón, que consiste en frotar repetidamente su glándula submandibular en objetos llamativos. En el despliegue de este comportamiento, que es una parte importante del sistema de comunicación química de este mamífero, los conejos muestran diferencias individuales muy estables en su frecuencia. Aunque la conducta de marcaje ha sido ampliamente descrita, poco se sabe acerca del origen de las diferencias individuales y de los mecanismos fisiológicos que les subyacen. En este trabajo, investigamos en condiciones de laboratorio, la posible influencia de los primeros factores ambientales asociados a la presencia de hermanos en el desarrollo de tales diferencias en 36 conejas (provenientes de 13 camadas). Para cada individuo, prenatalmente registramos su posición intrauterina, el tamaño de la camada y el sexo de sus hermanos adyacentes: hembras entre dos hembras (0M), hembras entre una hembra y un macho (1M), y hembras entre dos machos (2M), y postnatalmente la masa corporal al nacimiento, la posición que ocuparon en el agrupamiento con sus hermanos de camada y la ganancia en peso al destete (como un sustituto de la competencia intracamada por la leche). También se midió la frecuencia individual del marcaje del mentón en los días postnatales 20 a 22 (pre-destete), 74 a 76 (etapa juvenil) y 124 a 126 (madurez sexual), y se cuantificó la concentración de estradiol una vez durante la madurez sexual. Los resultados mostraron repetibilidad en la frecuencia de marcaje dentro de la etapa juvenil ($R=0.815$, $p<0.001$) y dentro de la etapa de la madurez sexual ($R=0.865$, $p<0.001$). También encontramos repetibilidad entre las etapas juvenil y madurez sexual ($R=0.263$, $p<0.01$). Respecto al efecto de las interacciones intracamada sobre el origen de las diferencias individuales, los resultados mostraron un efecto directo positivo, estadísticamente significativo ($p<0.01$) del sexo de los hermanos adyacentes sobre la conducta de marcaje. No se encontraron efectos significativos directos ni indirectos del resto de las variables predictoras, prenatales ni postnatales, sobre la conducta de marcaje y la concentración de estradiol. Nuestros resultados sugieren que la conducta de marcaje del mentón que despliegan las hembras del conejo doméstico es un rasgo de individualidad estable en el tiempo y está fuertemente explicado por el fenómeno prenatal.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Origen de las diferencias individuales	1
1.2. Comunicación biológica	2
1.2.1. Comunicación química	3
1.3. Hormonas y conducta	4
1.3.1. Hormonas sexuales y conducta sexual en hembras	6
1.4. Estradiol	6
2. Antecedentes	9
2.1. Conejo doméstico	9
2.2. Desarrollo prenatal	9
2.2.1. Tamaño de la camada	10
2.2.2. Posición intrauterina	11
2.2.3. Fenómeno prenatal	11
2.3. Desarrollo postnatal temprano	13
2.3.1. Peso al nacimiento	13
2.3.2. Interacciones intracamada	14
2.4. Conducta de marcaje por frotamiento del mentón	14
2.4.1. Conducta de marcaje en hembras	16
3. Justificación	17
4. Hipótesis	18
5. Objetivos	18
6. Metodología	19
6.1. Animales.	19
6.2. Ovariectomía unilateral.	19
6.3. Parto.	19
6.4. Primera semana postnatal	20
6.5. Conducta de marcaje por frotamiento del mentón	22
6.6. Cuantificación de estradiol.	23
6.7 Análisis estadístico	24
7. Resultados	27

7.1. Repetibilidad	27
7.2 Path analysis	30
7.3 Relación de interacciones prenatales y postnatales tempranas dentro de la camada y concentración de estradiol	31
8. Discusión	33
8.1 Repetibilidad en la frecuencia de marcaje	33
8.2 Path analysis.	34
8.3 Interacciones intracamada y concentración de estradiol	35
8.4 Conducta de marcaje y concentración de estradiol en etapa adulta	35
9. Conclusión	36
10. Perspectivas	37
11. Referencias	38
12. Glosario	44
13. Anexos	46
13.1 Cuantificación de estradiol por técnica de ELISA	46
13.1.1 Preparación de buffers, muestra y reactivos específicos de la prueba	46
13.1.2 Configuración de placa de prueba	47
13.1.3 Realización de la prueba	47
14. Resúmenes de memorias de congresos nacionales o internacionales	49

1. Introducción

1.1. Origen de las diferencias individuales

La personalidad animal, definida como las diferencias individuales en fisiología y conducta, que son estables en el tiempo y consistentes entre contextos (Gosling 2001), ha sido estudiada en un gran número de especies, tanto de vertebrados como de invertebrados (Stamps y Groothuis 2010), para entender su valor adaptativo, su evolución y en menor medida su origen (Roche y cols. 2016).

Pese a que el origen de las diferencias individuales en conducta es en parte genético (Dingemans y cols. 2002; Sinn y cols. 2006), cada vez es más aceptada la contribución de factores no genéticos, debidos al ambiente, en moldear tales diferencias. Dentro de estos factores está la interacción con la madre. Por ejemplo, en mamíferos no humanos, el entorno social en el que viven las hembras gestantes es fundamental para el desarrollo de su descendencia, ya que la exposición al estrés prenatal puede afectar el desarrollo conductual, disminuir la función inmunológica, reducir la propensión a la interacción social, y el desarrollo de ejes hormonales de los vástagos a corto y largo plazo (Götz y Stefanski 2007). La presencia de los hermanos es otro componente importante que igual contribuye a moldear las diferencias individuales, la cual tiene el potencial de afectar el desarrollo morfológico, fisiológico y conductual de los individuos durante diferentes etapas de la vida prenatal y postnatal de las crías (Hudson y cols. 2011).

Prenatalmente, en mamíferos de patrón politoco, el sitio en el que se desarrollan los fetos dentro del cuerno uterino, en su parte distal o proximal, así como el tamaño de la camada gestada, influyen fuertemente en la masa corporal al nacimiento y afectan el desarrollo individual (Bautista y cols. 2015a). Igualmente, la variabilidad individual en fisiología, morfología y conducta, puede estar influida por la variación hormonal a la cual estuvieron expuestos los fetos durante la gestación (Ryan y Vandenbergh 2002). Se sabe que los fetos femeninos que se desarrollan entre dos machos tienden a mostrar rasgos masculinizados en anatomía, fisiología y conducta en etapa adulta. Por ejemplo, niveles hormonales permanentemente alterados (vom Saal y Bronson 1978), diferencias morfológicas en órganos

reproductivos (Bánszegi y cols. 2009) y comportamientos agresivos (vom Saal y Bronson, 1978) debido a la transferencia de testosterona secretada por fetos masculinos a fetos adyacentes. Por otra parte, los fetos femeninos que se desarrollan sin machos adyacentes, tienden a mostrar rasgos más feminizados en etapa adulta (Ryan y Vandenberg 2002).

Postnatalmente, las interacciones intracamada son un componente importante en el entorno temprano de mamíferos altriciales. Las diferencias tempranas en la masa corporal entre compañeros de camada, predicen las diferencias individuales en crecimiento, desarrollo y supervivencia de los individuos (Bautista y cols. 2015b). El peso al nacimiento es un buen predictor del desarrollo y supervivencia de las crías, aquellas que son más ligeras son las que tienen menores probabilidades de sobrevivir al destete (Rödel y cols. 2009; Rödel y cols. 2015). Además, las interacciones tempranas dentro de la camada se asocian a diferencias individuales en conducta cuando son adultos (Reyes-Meza y cols. 2011). Lo cual sugiere que, en especies gregarias cuyo comportamiento social se basa en el reconocimiento de los individuos, las diferencias individuales en conductas utilizadas por individuos de una misma especie para el intercambio de información (comunicación), pueden ser rasgos volubles que dependen del entorno social temprano de los individuos.

1.2. Comunicación biológica

Los animales usan diferentes tipos de comunicación para transmitir información sobre su estado de salud, reproductivo o social. Wilson (1970) definió la comunicación biológica como la acción por parte de un organismo o célula, que altera el patrón de comportamiento de otro organismo o célula de manera adaptativa, es decir, que la señalización, la respuesta o ambas, han sido genéticamente programadas por la selección natural (revisado en Wyatt 2003).

1.2.1. Comunicación química

La comunicación química es un rasgo vital que se produce en los diferentes niveles de organización biológica, incluyendo la regulación entre células, tejidos, órganos, sistemas, así como el comportamiento social y las interacciones ecológicas entre los individuos (Agosta 1992).

A nivel de individuos, en la comunicación química, al igual que en cualquier tipo de comunicación, hay un intercambio de mensajes. En este caso ocurre a través de señales químicas, las cuales son secreciones corporales que contienen moléculas odoríferas que son transportadas por el aire o depositadas sobre objetos en el ambiente, y detectadas en forma de olor por individuos de la misma especie a través de los sistemas olfatorios, principal y accesorio, desencadenando una cascada de señales químicas y eléctricas en el organismo receptor (Coombes y cols. 2018), provocando en los individuos que las perciben diversos efectos, tanto fisiológicos como conductuales (Hart 1985).

Dichas señales olfatorias, son emitidas por diversas glándulas corporales y pueden ser transmitidas a través de dos formas, de manera activa, por medio de despliegues conductuales, por ejemplo, el marcaje del mentón, la micción y la defecación. O bien de manera pasiva, mediante liberación de moléculas olfatorias, tal es el caso de las feromonas mamarias y las secreciones de la glándula inguinal, en mamíferos (Hudson y Distel 1982; Melo y González-Mariscal 2010).

En los mamíferos, las señales olfatorias influyen fuertemente en las interacciones sociales, como lo son el rango jerárquico, dominancia o territorialidad (Melo y González-Mariscal 2010) y en la regulación de una variedad de funciones biológicas, tales como ciclo reproductivo, gestación, identificación de parentesco (Dluzen y cols. 1992; Bakker y Baum 2000) entre otras.

Una amplia variedad de especies de mamíferos ha sido empleada en el estudio de la comunicación química, mostrando que las secreciones de glándulas corporales, tanto en hembras como machos, intervienen en la regulación de aspectos específicos. Por ejemplo, en

gatos salvajes urbanos, se ha descrito la identificación de parentesco por medio de marcas de orina (Natoli 1985).

En mamíferos territoriales y gregarios, su vida social depende en gran medida de la comunicación química (Mykytowycz 1962). Una de las especies pioneras en el estudio de la comunicación química es el conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*), son mamíferos territoriales y generalmente viven en grupos pequeños de 1-3 machos y de 1-5 hembras. En estudios en el conejo doméstico se ha determinado que posee diversas fuentes de olor, llamadas glándulas corporales, entre ellas, la glándula anal, de Harder, preusial y submandibular (Mykytowycz 1962; Mykytowycz 1965). En éstas, producen una variedad de señales olfativas para transmitir información sobre su estado reproductivo, para defensa de territorio, competencia intra e intersexual, atracción sexual, comportamiento materno, lactancia y jerarquía social (Melo y González-Mariscal 2010). Las cuales, se ha descrito, están en parte moduladas por factores endocrinos (Wales y Ebling 1971; González-Mariscal y cols. 1990; Hudson y cols. 1990).

1.3. Hormonas y conducta

Las hormonas tienen la capacidad de modular el comportamiento de los individuos a través de su participación en procesos de plasticidad cerebral, provocando principalmente dos efectos: el organizacional y el activador, (Wong y Álvarez 2013; Rodríguez-Manzo 2015). El efecto organizacional hace referencia a la influencia hormonal sobre la disposición y estructura de células y tejidos, que conforman el cerebro. Tal efecto tiene lugar durante el desarrollo temprano de los individuos, específicamente, del período fetal a la adolescencia (Wong y Álvarez 2013).

Durante el desarrollo prenatal, en las hembras, se favorece la formación de los ovarios ante la ausencia del cromosoma “Y”. Mientras que en los machos, el efecto sinérgico entre los genes SRY, presente en el brazo corto del cromosoma “Y”, y el gen SOX9 favorecen la diferenciación de las células de Sertoli para dar lugar a la formación de testículos (Fernández y cols. 2015; Rodríguez-Manzo 2015).

Los testículos de fetos masculinos formados durante la diferenciación sexual gonadal, a diferencia de los ovarios en las hembras, están activos, es decir, producen hormonas sexuales en las células testiculares de Leydig, específicamente testosterona (Cambiasso y cols. 2017). La testosterona viriliza el sistema nervioso central del propio organismo que la produce o de fetos adyacentes en el caso de mamíferos politocos (vom Saal 1989). Este proceso ocurre mediante tres formas, uno, la molécula propia de testosterona produce efectos en el cerebro, dos, se reduce en el carbono 5 y se convierte a otros andrógenos, y tres, se aromatiza convirtiéndose en estradiol para dar características típicas masculinas al sistema nervioso central (Fernández y cols. 2015; Rodríguez-Manzo 2015). De esta forma la testosterona y sus metabolitos son capaces de regular la formación de nuevas neuronas, el número y tipo de contactos sinápticos, el crecimiento axonal y de dendritas, así como la necrosis neuronal, en individuos expuestos a estas hormonas durante el desarrollo prenatal (Rodríguez-Manzo 2015). Por lo tanto, la testosterona favorece diferencias en el desarrollo de ciertas áreas cerebrales entre machos y hembras, lo cual repercute en el comportamiento de los individuos (García-Segura 2009; Rodríguez-Manzo 2015).

Posteriormente, durante la pubertad, ocurre el efecto activador, en el cual, la estructura cerebral básica ya está formada, y las hormonas estimulan a las células diana de tales estructuras cerebrales para facilitar el despliegue de conductas en contextos específicos, desencadenando alteraciones en el organismo cuyo mantenimiento es dependiente de la presencia de estas hormonas (Wong y Álvarez 2013).

El mecanismo de acción de las hormonas sobre la activación y la respuesta fisiológica de las células diana, está determinada por la unión establecida entre la estructura tridimensional de la hormona y la estructura complementaria del receptor celular (Palacios y cols. 2005). Por lo tanto, el mecanismo de acción hormonal depende de la naturaleza química de las hormonas.

Por una parte, las hormonas hidrosolubles, necesitan unirse a transportadores transmembranales para realizar su acción celular, activando segundos mensajeros que amplifican la señal hormonal. Por otra parte, las hormonas liposolubles penetran a la célula a través de la membrana citoplasmática sin necesidad de transportadores y forman un complejo activo que actúa en la expresión genética de la célula diana (Palacios y cols. 2005).

Las hormonas sexuales, andrógenos en machos (principalmente testosterona) y estrógenos en hembras (estrón, estradiol y estriol) son hormonas de tipo liposoluble, secretadas y producidas principalmente en las gónadas. Actúan en diversas áreas cerebrales, como el núcleo ventromedial hipotalámico y el área preóptica medial (Oropeza y Morali 2015), para regular conductas sexuales y reproductivas (Fernández y cols. 2015; González y cols. 2015; Oropeza y Morali 2015).

1.3.1. Hormonas sexuales y conducta sexual en hembras

La inducción de la conducta sexual femenina depende de los niveles de hormonas sexuales, estradiol y la progesterona, producidos por las gónadas femeninas (ovarios) (Balun 2009; Fernández y cols. 2015). Está descrito que el estradiol al unirse a sus receptores intracelulares en diversas áreas cerebrales, induce la síntesis de receptores de progesterona, y la unión de éstos con la progesterona facilita la expresión de la conducta sexual femenina (revisado en González y cols. 2015).

También, se ha demostrado que la ovariectomía produce disminución inmediata en la concentración de hormonas y, por ende, la conducta sexual femenina se suprime. Pero al administrar hormonas sexuales femeninas, la conducta sexual se restaura (Hudson y cols. 1990), debido al incremento de la señal que resulta en una respuesta amplificada en neuronas específicas. Por ejemplo, se ha demostrado en conejas ovariectomizadas (ovx) que los implantes de benzoato de estradiol en el núcleo ventromedial hipotalámico y área preóptica medial, promueven la conducta de lordosis (Melo y cols. 2008).

1.4. Estradiol

El estradiol es una hormona esteroidea, caracterizada por tener una estructura básica, el ciclopentanoperhidrofenantreno, formado por 3 anillos de benceno, y un anillo ciclopentano, formado por 5 átomos de carbono (Figura 1) (Balun 2009), cuyas acciones se manifiestan en el

desarrollo de las características sexuales secundarias y en el proceso de reproducción (Balun 2009).

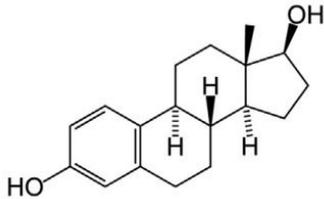


Figura 1. Estructura química del estradiol (Tomado de Sato y cols. 2016).

Esta hormona se sintetiza principalmente en los ovarios, no obstante, hay sitios extragonadales capaces de producir estradiol, a causa de la presencia de la enzima aromatasa, incluyendo mama, hueso, musculo liso y varios sitios en el cerebro (Simpson 2002). La producción ovárica diaria varía según la fase del ciclo, sin embargo, es muy pequeña la cantidad que se produce. En tanto, la producción extragonadal puede ser bastante alta, pero la acción del estrógeno en estos sitios es principalmente a nivel local, para cumplir funciones paracrinas o autocrinas (Simpson 2002). De manera que la cantidad de estradiol que se libera a circulación sanguínea es baja (Balun 2009; Sato y cols. 2016). Las células productoras de esteroides ováricos no almacenan hormonas, únicamente se producen en respuesta a las hormonas leutinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) que se unen a sus receptores en las células tecales y células de la granulosa, respectivamente, durante el ciclo ovárico (Balun 2009).

Las células de la teca que rodean el folículo están altamente vascularizadas y usan el colesterol, derivado principalmente de la circulación, como punto de partida para la síntesis de androstenediona y testosterona bajo el control de LH. La androstenediona y la testosterona se transfieren a través de la lámina basal hasta las células de la granulosa. Las células de la granulosa son particularmente ricas en aromatasa y, bajo la influencia de FSH, produce estradiol (Figura 2), el esteroide primario del ovario en la fase folicular y el estrógeno más potente (Balun 2009; Sato y cols. 2016).

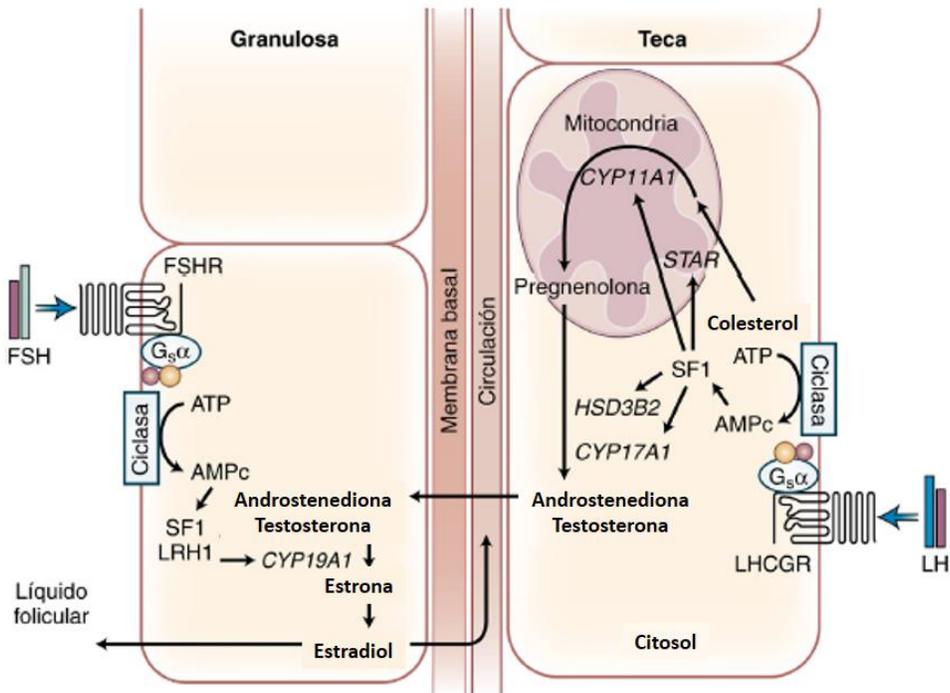


Figura 2. El folículo ovárico preovulatorio produce estradiol mediante una interacción paracrina entre las células teca y granulosa. En las células teca, como respuesta a la unión de LH con su transportador de membrana (LHCGR), el factor esteroidogénico 1 (SF1) actúa como conmutador principal para iniciar la transcripción de una serie de genes esteroidogénicos (*HSD3B2*, *CYP17A1*, *CYP11A1*, *STAR*) que favorecen la conversión del colesterol captado por las células teca a partir de la circulación, en pregnenolona y posteriormente en androstenediona y testosterona. Después, en las células de la granulosa, como respuesta de la unión de la FSH con su transportador de membrana (FSHR), la *CYP19A1* (aromatasa) cataliza a la androstenediona y testosterona, provenientes de las células teca, para dar lugar a la estrona, que a continuación es convertida en estradiol (Tomado de Balun 2009).

2. Antecedentes

2.1. Conejo doméstico

La coneja, en condiciones naturales, excava una madriguera de crianza uno o dos días antes de parir, en donde construye un nido con hierba que colecta de los alrededores y que entremezcla con pelo que ella misma se desprende de su vientre y flancos (Deutsch, 1957). En el laboratorio la coneja construye el mismo tipo de nido, pero dentro de una caja-nido de madera y utiliza heno que se le proporciona. El parto ocurre alrededor del día 31 de gestación y es relativamente rápido 10 – 15 min (Hudson y cols. 1999). Una vez que la última cría es expulsada la coneja deja a sus crías y, tanto en la naturaleza como en el laboratorio, la madre regresa aproximadamente 24 horas después para amamantarlos solo por 3 a 4 min (Hudson y Distel 1989). Las crías del conejo anticipan la llegada de la madre descubriéndose del material del nido. En cuanto la madre se posa sobre ellos exponiéndoles su vientre, las crías, sin ninguna asistencia materna, localizan el pezón, se sujetan a él y succionan la suficiente cantidad de leche para sobrevivir las siguientes 24 horas. Durante el amamantamiento la madre típicamente permanece inmóvil sobre la camada y finaliza la sesión de amamantamiento dando un salto abrupto fuera de la caja-nido (Hudson y Distel 1982; Bautista y cols. 2005). Este robusto patrón de conducta maternal, en donde la madre está en cierta manera ausente de manera natural, implica que antes de ser destetadas, las crías crecen casi exclusivamente en compañía de sus compañeros de camada (Hudson y cols. 2011). Esto nos permite estudiar el efecto de las interacciones tempranas entre los hermanos sin alterar la relación madre-cría.

2.2. Desarrollo prenatal

Durante el desarrollo intrauterino del conejo doméstico, un mamífero de patrón politoco, varios factores contribuyen a moldear diferencias individuales entre los compañeros de camada tales como el número de crías gestadas (Rödel y cols. 2009; Rödel y cols. 2015), el sitio de implantación de cada individuo a lo largo del cuerno uterino de la madre (Bautista y cols. 2015a) y el número de machos adyacentes entre los que se desarrolla el feto (Bánszegi y cols. 2009).

2.2.1. Tamaño de la camada

El tamaño de la camada gestada, juega un papel muy importante en el desarrollo y supervivencia de los individuos que la conforman, otorgándoles tanto ventajas como desventajas. Por una parte, se sabe que el peso al nacimiento es inversamente proporcional al número de individuos de la camada gestada, y que estas diferencias en peso se mantienen al menos hasta el destete (revisado en Hudson y cols. 2011). Lo cual repercute en su desarrollo postnatal, ya que las crías más ligeras tienen menos probabilidades de sobrevivir al destete en comparación con sus hermanas pesadas (Rödel y cols. 2009; Rödel y cols. 2015).

Aunado a lo anterior, al nacimiento las crías no son capaces de termorregular por sí solas, necesitan de la presencia de hermanos para mantener su temperatura corporal (Bautista y cols. 2003). Al estar en contacto con otros individuos, su área corporal expuesta al frío disminuye y, por lo tanto, disminuye su gasto energético en minimizar la pérdida de calor, permitiéndoles así reasignar la energía ahorrada a otras funciones, como el crecimiento (Bautista y cols. 2003). Desde esta perspectiva, tener un mayor número de hermanos les proporciona una ventaja térmica. Sin embargo, a mayor número de hermanos, la competencia por recursos, específicamente la leche materna, es mayor (Bautista y cols. 2005). Lo cual indicaría que a los individuos les conviene tener menor número hermanos, porque representa menor competencia y mayor proporción de leche para éstos, ya que se ha reportado que la producción de leche materna no disminuye con la reducción postnatal del tamaño de la camada (Drummond y cols. 2000). No obstante, se ha descrito que los beneficios térmicos que proporciona tener mayor número de hermanos de camada, en condiciones más frías de temperatura del suelo, superan las consecuencias negativas de la competencia por leche materna, de manera que el tamaño óptimo de la camada para el crecimiento también depende de las condiciones ambientales en las que se desarrollan los individuos (Rödel y cols. 2008).

2.2.2. Posición intrauterina

Se ha descrito que existe una variación en el peso al nacimiento entre los individuos de la camada asociado al sitio en el que fueron implantados a lo largo del cuerno uterino. Los conejos implantados en los extremos del cuerno, cerca del ovario o cerca del cérvix, son más pesados al nacimiento con respecto a los que se implantaron en el centro (Bautista y cols. 2015a). Asimismo, fueron significativamente más pesados al destete que sus hermanos y ocuparon posiciones más centrales durante el agrupamiento, teniendo una mayor probabilidad de supervivencia. En consecuencia, en el conejo, el sitio de implantación a lo largo de los cuernos uterinos contribuye de manera importante a las diferencias individuales entre los compañeros de camada en el crecimiento y la supervivencia postnatal temprana (Zepeda y cols. 2019).

2.2.3. Fenómeno prenatal

La influencia del sexo de los hermanos adyacentes en el útero, sobre la diferenciación sexual en mamíferos de patrón politoco, conocido como fenómeno prenatal, se debe a los esteroides sexuales a los que estuvieron expuestos los individuos durante el desarrollo uterino, de acuerdo con el sexo de los hermanos adyacentes entre los que se desarrollaron (Figura 3) (vom Saal 1981). En varias especies de mamíferos politocos, se ha descrito que diferencias individuales en una variedad de características, se correlacionan con la posición intrauterina (vom Saal 1989).

Esto se debe a que testosterona producida por los fetos masculinos en el tercer tercio de la gestación puede atravesar el saco amniótico y difundirse en el cuerno uterino. Generando así, diferenciación sexual cerebral en los fetos adyacentes y en los mismos machos que la producen, causando diferenciación sexual en el sistema nervioso central de manera permanente y, por lo tanto, en diversas conductas sexuales (Ryan y Vandenberg 2002).

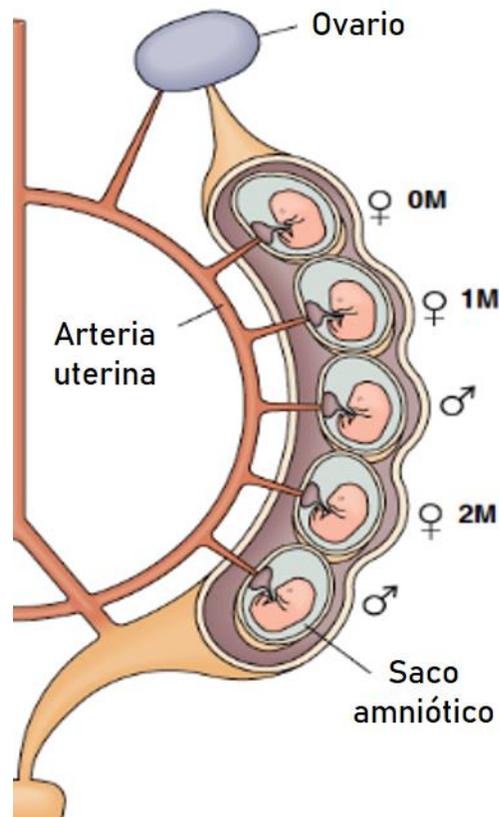


Figura 3. Diagrama esquemático de un cuerno uterino y arterias del asa uterina de un ratón hembra. Las etiquetas 0M, 1M y 2M se refieren al número de fetos masculinos contiguos a las hembras (2M= entre dos machos, 1M=entre un macho y una hembra, y 0M= entre dos hembras) (tomado de Crews 1994).

El proceso de diferenciación sexual cerebral ha sido ampliamente estudiado en roedores, en machos ocurre mediante dos procesos, masculinización y defeminización, dados por la testosterona, sus metabolitos y el factor de inhibición mulleriano (MIF por sus siglas en inglés) respectivamente (Rodríguez-Manzo 2015). La masculinización provoca que ciertas regiones cerebrales sexualmente dimórficas adquieran un perfil masculino, mientras que la defeminización evita el desarrollo de patrones conductuales, fisiológicos y morfológicos femeninos (Rodríguez-Manzo 2015).

En las hembras, la diferenciación sexual es un proceso pasivo, ya que los ovarios no producen hormonas durante la etapa prenatal. Sin embargo, la testosterona producida por los machos que llega a los fetos femeninos adyacentes (vom Saal 1989), ejerce cambios en el

sistema nervioso central, durante una fase específica del desarrollo denominada periodo crítico (Fernández y cols. 2015). De esta forma, produce cambios morfológicos, conductuales e incluso fisiológicos, a corto, mediano y largo plazo (Ryan y Vandenberg 2002; Bánszegi y cols. 2010). Por ello, el fenómeno prenatal proporciona un método único para examinar la relación entre la exposición a esteroides sexuales durante la vida fetal y las características conductuales y fisiológicas postnatales de los individuos que conforman la camada (vom Saal 1989).

En el conejo, se ha reportado que la posición intrauterina, con respecto al número de hermanos machos adyacentes, puede afectar el desarrollo sexual de un feto femenino al igual que en otros mamíferos politocos. Las hembras de conejo gestadas entre dos machos adyacentes (2M), muestran distancia anogenital de mayor tamaño al nacimiento y en etapa adulta, en comparación con las que se desarrollan entre uno (1M), o cero (0M) machos (Bánszegi y cols. 2009; Bánszegi y cols. 2010). También, muestran una conducta más agresiva en etapa adulta, así como mayor marcaje sobre objetos que encuentran en el ambiente, a través de la conducta de marcaje por frotamiento del mentón (Bánszegi y cols. 2009; Correa y cols. 2013).

2.3. Desarrollo postnatal temprano

El ambiente postnatal temprano en el que crecen de las crías de conejo juega un papel muy importante en el desarrollo y supervivencia de los individuos. Dado el patrón de conducta materna en el conejo doméstico, previamente descrita, un factor importante que contribuye al desarrollo y supervivencia de los gazapos son las interacciones con sus hermanos de camada.

2.3.1. Peso al nacimiento

Como había sido señalado en secciones anteriores, el peso al nacimiento es un factor importante que predice el crecimiento y la supervivencia postnatal temprana (Bautista y cols. 2015a). En el conejo doméstico, dentro de las camadas, las diferencias en peso al nacimiento influyen significativamente en el desarrollo postnatal temprano. Los individuos con mayor peso

al nacimiento tienen más éxito en la competencia por recursos limitados, como la competencia por la leche materna y por sitios térmicamente ventajosos dentro del agrupamiento postnatal. Por lo tanto, muestran tasas de crecimiento y supervivencia más altas que sus hermanos más ligeros (Rödel y cols. 2008; Bautista y cols. 2015b). Además, como se mencionó anteriormente, se sabe que las crías ligeras al nacimiento muestran un estilo conductual más proactivo que sus hermanas más pesadas en la etapa adulta (Reyes-Meza y cols. 2011).

2.3.2. Interacciones intracamada

Los primeros días postnatales son cruciales en la supervivencia de mamíferos altriciales. En el conejo doméstico se ha demostrado que el agruparse con los compañeros de camada es una estrategia vital para mantener alta la temperatura corporal. Los individuos que ocupan posiciones centrales, generalmente son los más pesados, tienen mayor acceso a los pezones de la madre durante el amamantamiento y mayor temperatura corporal (Zepeda y cols. 2019). De modo que, por una parte, aparentemente, no invierten la energía producida en tejido adiposo pardo para termorregular, pero sí en obtener mayor ganancia en peso (Bautista y cols. 2013). Por otro lado, Reyes-Meza y cols. (2011) observaron que las crías periféricas son más activas, pues buscan ocupar sitios centrales en el agrupamiento. En consecuencia, en etapa juvenil las crías periféricas, mostraron un estilo proactivo, y las centrales un estilo reactivo en el despliegue conductual (Reyes-Meza y cols. 2011). Posiblemente, este efecto también se observe en un despliegue proactivo de otras conductas propias de la especie, como lo es la conducta de marcaje por frotamiento del mentón.

2.4. Conducta de marcaje por frotamiento del mentón

Una parte importante del sistema de comunicación química en el conejo doméstico es el marcaje por frotamiento del mentón, una conducta de marcaje odorífero, conspicua, en la cual los individuos han demostrado poseer una gran consistencia como un rasgo de individualidad (Arteaga y cols. 2008). El marcaje del mentón consiste en frotar repetidamente la barbilla sobre

objetos presentes en el ambiente, con la finalidad de depositar secreciones odoríferas producidas por la glándula submandibular (Hayes y cols. 2003). Esta glándula se desarrolla a partir de la vaina externa de la raíz del folículo piloso (Wales y Ebling 1971) y se agranda durante la pubertad en ambos sexos. Pero una vez que los individuos alcanzan la madurez sexual, la anatomía, fisiología y actividad secretora, muestran un marcado dimorfismo sexual (Mykytowycz 1965; Wales y Ebling 1971).

En ambos sexos, la glándula submandibular está compuesta por tres lóbulos, un central y dos laterales (Mykytowycz 1965). Cada uno de ellos a su vez está formado por conglomerados de túbulos que yacen en tejido subcutáneo y abren sus ductos excretores sobre la superficie de la piel. Sin embargo, el peso y el tamaño de la glándula son mayores en machos que en hembras (Mykytowycz 1965), conjuntamente, existen diferencias entre hembras y machos en la proporción de células secretoras que componen los túbulos. En los machos, en contraste con las hembras, hay mayor proporción de células epiteliales vacuoladas, lo cual indica que son los machos quienes presentan alta intensidad de la secreción (Mykytowycz 1965).

En las secreciones de la glándula submandibular se han descrito 34 compuestos volátiles (Hayes y cols. 2003), incluyendo proteínas, carbohidratos, hidrocarburos, ésteres sin glicerol, ácidos grasos, colesterol, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, compuestos aromáticos como benzaldehído, benzoato de etilo, acetofenona, naftalina y 2-fenoxietanol, este último presente únicamente en las secreciones de machos dominantes, y sus función es prolongar la duración de la marca sobre los objetos (Hayes y cols. 2003).

A través del marcaje, los individuos transmiten información sobre su estatus reproductivo y social (Mykytowycz 1968; González-Mariscal y cols. 1990). Se ha propuesto que la principal función de marcaje del mentón es mantener un rango social dentro del grupo que le permita al individuo tener dominio de un territorio (Mykytowycz 1965; revisado en Melo y González-Mariscal 2010), ya que la frecuencia de marcaje depende del estatus social (Mykytowycz 1962), estado reproductivo (González-Mariscal y cols. 1990; Hudson y cols. 1990), edad y sexo (González-Mariscal y cols. 1992).

2.4.1. Conducta de marcaje en hembras

En conejos de la raza Nueva Zelanda, la conducta de marcaje en hembras emerge alrededor del día postnatal 41 ± 16 . A partir de entonces la frecuencia de marcaje va incrementando hasta que se estabiliza en el día postnatal 100 (González-Mariscal y cols. 1992). La función biológica del marcaje en hembras no es muy clara. Sin embargo, una propuesta para el marcaje es la selección de pareja, que podría ser válida ya que en conejas sexualmente receptivas la frecuencia de marcaje es mayor en comparación con hembras gestantes (González-Mariscal y cols. 1990). Además, existe un correlato positivo entre el número de marcas y la concentración de estradiol en sangre (Hudson y cols. 1990). Adicionalmente, se conoce que, a diferencia de la testosterona en los machos, en las hembras, el estradiol sí estimula el núcleo ventromedial hipotalámico para inducir la conducta de marcaje del mentón (Melo y cols. 2008). Además, se ha reportado que en ambos sexos la presencia hormonal, testosterona en machos y estradiol en hembras, estimulan el área preóptica medial para desplegar la conducta de marcaje (Melo y cols. 2008). Sin embargo, los andrógenos prenatales regulan la actividad de la aromatasa en el área preóptica medial, por lo tanto, los niveles de aromatasa en esta región cerebral son mayores en machos que en hembras (Roselli y Klosterman 1998). Ello podría estar indicando que al menos en hembras, la conducta de marcaje es dependiente de estradiol, pero no de testosterona.

3. Justificación

La conducta de marcaje por frotamiento del mentón ha sido ampliamente estudiada en relación a factores hormonales y no hormonales (por ejemplo, detección de marcas de olor en el ambiente, contexto de agresión o características visuales de los objetos) que regulan la frecuencia de marcaje en el conejo doméstico. Sin embargo, poco se sabe acerca del origen de las diferencias individuales en el despliegue de esta conducta y de los mecanismos fisiológicos que subyacen a tales diferencias.

Por ello, a través de los resultados de la presente investigación pretendemos explicar la cadena de causas y efectos en orden cronológico de las interacciones prenatales y postnatales tempranas entre hermanos de camada. Así mismo, las posibles consecuencias de estas interacciones sobre el origen de las diferencias individuales en conducta de marcaje del mentón, utilizando un análisis de ruta multivariable. En el cual observamos tanto los efectos directos como indirectos de cada una de las variables predictoras sobre la conducta de marcaje del mentón, así como las concentraciones hormonales, específicamente estradiol, que, a su vez, podrían estar modulando dicha conducta.

Además, si la conducta de marcaje mostrara estabilidad individual en las tres etapas del desarrollo, pre destete, juvenil y adulto, tales diferencias en frecuencia de marcaje podrían representar una medida significativa de individualidad con posibles consecuencias ecológicas y evolutivas.

En las hembras, una función biológica descrita para la conducta de marcaje es la de indicar el estro. Así pues, al describir las diferencias individuales en el despliegue de esta conducta, y los factores que expliquen su desarrollo, se comenzaría a entender cómo las interacciones tempranas, que modifican la concentración hormonal, afectan o favorecen la reproducción femenina de manera indirecta, a través de una conducta.

4. Hipótesis

Las interacciones intracamada, prenatales y postnatales, modulan el desarrollo de diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y de sus mecanismos fisiológicos subyacentes, en hembras del conejo doméstico.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Determinar el efecto de las interacciones tempranas intracamada sobre las diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y en las concentraciones de estradiol en hembras del conejo doméstico.

5.2. Objetivos específicos

Determinar el efecto del desarrollo prenatal sobre las diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y las concentraciones de estradiol en hembras adultas del conejo doméstico.

Determinar el efecto del desarrollo postnatal sobre las diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y las concentraciones de estradiol en hembras adultas del conejo doméstico.

Determinar la posible interacción entre el desarrollo prenatal y postnatal sobre las diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón y las concentraciones de estradiol en hembras adultas del conejo doméstico.

6. Metodología

6.1. Animales. Se utilizaron las crías hembra de un total de 13 camadas provenientes de 12 conejas ovariectomizadas unilateralmente (OVXU) de 5 meses de edad (3.0-3.5 Kg) de la especie *Oryctolagus cuniculus*. Se mantuvieron en condiciones estándar (16 h/8 h de luz y oscuridad a 22 ± 2 °C) en el bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (Universidad Autónoma de Tlaxcala), alojadas en jaulas individuales de acero inoxidable (90 x 60 x 40 cm), con alimento (Purina rabbit chow, Purina Mills, E.U) y agua disponibles *ad libitum*.

6.2. Ovariectomía unilateral. Con la finalidad de establecer a través del orden de nacimiento el sitio relativo de implantación (respecto a sus hermanos) a lo largo del cuerno uterino derecho, se realizó la ovariectomía unilateral (OVXU). Para ello, las conejas se pesaron e inmediatamente después se anestesiaron con Ketamina (0.35 mL/kg peso, vía intramuscular; CHEMINOVA, México) y Xilacina (0.20 mL/kg peso, vía intramuscular; PROCIN, PiSA Agropecuaria, México). Una vez anestesiadas se les rasuró el flanco izquierdo, se hizo asepsia en el área quirúrgica con benzal (benzalónico, MAVER, México) y se realizó una incisión de 3cm aproximadamente. Se localizó el ovario izquierdo, se ligó la trompa izquierda con sutura (PGA, USP 4-0, EP 1.5, Atramat, México) y se extirpó el ovario. Después se suturó la piel con sutura (Nylon, USP 3-0, EP 2, Atramat, México) (Bautista y cols. 2015a). Posterior a la cirugía se administró 10,000 UI/ kg de peso de penicilina (Shotapen, classi, Virbac, México) en 500 µL de vehículo cada 24 horas durante 5 días.

6.3. Parto. Un mes después de la ovariectomía unilateral, las hembras fueron apareadas con uno de 12 machos de la unidad reproductora. El día 30 de gestación se colocaron en un cuarto de observación por 24 h para su habituación al área, donde, al día siguiente, inmediatamente después de pesar a las conejas OVXU se les administró 5 UI de oxitocina (Oxitocín 20, Aranda, México) en 0.25 mL de vehículo para inducir el parto, y de esta forma conocer el orden de nacimiento de las crías. Una vez administrada la oxitocina lo habitual es que el parto ocurra aproximadamente 10 minutos después (Bautista y cols. 2015a). Seguidamente a la expulsión la última cría, para la identificación individual de éstas, se les pintó su número con plumón indeleble (Sharpie, Permanent Marker, E.U) en el vientre y con corrector blanco (BIC, Rapid,

Malasia) sobre su dorso y costados, el número de identificación correspondiente al orden de nacimiento. Posteriormente se midió su masa corporal con una balanza analítica (OHAUS Scout pro, 2001 E.U). Finalmente, se les midió la distancia ano-genital (DAG) con un caliper (Chicago Brand, 5001 (E.U)). Al terminar las mediciones, las crías se regresaron a la caja nido y fueron adoptadas por hembras nodrizas, ya que en estudios piloto observamos que las hembras ovariectomizadas no alimentan a las crías.

6.4. Primera semana postnatal. El día postnatal 1 (DP 1), a las 9:00 h las crías se retiraron en la caja nido de la jaula maternal ubicada en el bioterio, se llevaron a un cuarto con temperatura controlada a 25 °C, temperatura que se encuentra por debajo de la zona termoneutral de los conejos recién nacidos (Hull y Hull 1982). Ahí las crías permanecieron los siguientes 7 días postnatales. Para grabar el comportamiento de agrupamiento, se retiró el material del nido (pelo/heno), se colocó franela en el piso de la caja nido y para evitar que las crías se agruparan en un extremo de la caja introdujo un anillo hecho con malla metálica (25 cm de diámetro). Posteriormente se remarcaron los números de identificación de las crías, se pesaron con una balanza analítica (OHAUS Scout pro 2001, E.U) y se les midió su temperatura corporal en cuello e ingle, que son dos zonas representativas de la superficie corporal, la primera caliente y la última muy fría, con un termómetro (FLUKE-52-2 P.O Box, 9090 (Everett, W.A). La caja nido se colocó en el interior de una caja de acrílico para evitar que el viento producido por los ventiladores que enfrían el cuarto llegara directamente a las crías. El techo de esta caja de acrílico tiene empotrada una cámara digital que filmó a las camadas desde arriba. Ésta se mantuvo conectada de manera constante a un circuito cerrado con una computadora con el que se grabó durante el día la conducta del agrupamiento en videos de 15 min a las 12:00, 14:00, 16:00, 18:00 y 23:00 h. La temperatura corporal se midió nuevamente a cada cría a las 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 h, siempre el orden de medición fue al azar.

A las 18 h después de medir la última temperatura corporal, se disminuyó en 1 °C la temperatura del cuarto frío para inducir el agrupamiento. Debido a que, conforme pasan los días, las crías ganan aislamiento térmico por el rápido crecimiento de pelo y su zona termoneutral descende gradualmente. Diariamente se disminuyó la temperatura ambiental en 1 °C para seguir induciendo el agrupamiento.

A partir del DP 2 y hasta el DP 7, se filmaron las camadas a la 1:00, 3:00, 5:00, 7:00, 9:00, 12:00, 14:00, 16:00, 18:00 y 23:00 h. La temperatura corporal se midió a las 9:30, 11:00, 13:00, 15:00 y 17:00 h. Diariamente, inmediatamente después de registrar la temperatura corporal a las 9:30 h, se apagó el sistema de enfriamiento del cuarto frío, se retiró la caja nido de la caja de acrílico para colocarla sobre la mesa de trabajo del cuarto frío y se sustrajo el aro metálico tratando de perturbar lo menos posible el agrupamiento de la camada. Se indujo la expulsión de orina de las crías, para determinar la cantidad de leche que ingieren las crías, presionando suavemente con el dedo pulgar e índice sobre su abdomen. Después, se pesaron las crías para saber el peso antes del amamantamiento y al terminar se regresaron a su caja nido.

Se llevó a la madre nodriza al cuarto frío y se colocó junto a la caja nido que contenía a las crías. En el momento en que la madre saltó fuera de la caja nido, ésta se regresó a su jaula en el bioterio. Enseguida, se pesaron nuevamente a las crías y se regresaron a la caja nido, que, a su vez, se colocó dentro de la caja de acrílico para continuar con las grabaciones. De cada video se tomaron 4 fotografías, a los 0, 5, 10 y 15 min (Figura 4). En cada fotografía se contaron el número de vecinos en contacto que tiene cada cría, es decir, se contaron en número de hermanos que estuvieron en contacto con el individuo focal al menos un 10% de su superficie total (Bautista y cols. 2015b; Zepeda y cols. 2019). Finalmente, en el DP 7 después de tomar la última temperatura corporal (17:00), las crías se regresaron en su caja nido a la jaula de la madre. Se pesaron diariamente hasta el destete (DP 35) para registrar su incremento en masa corporal.

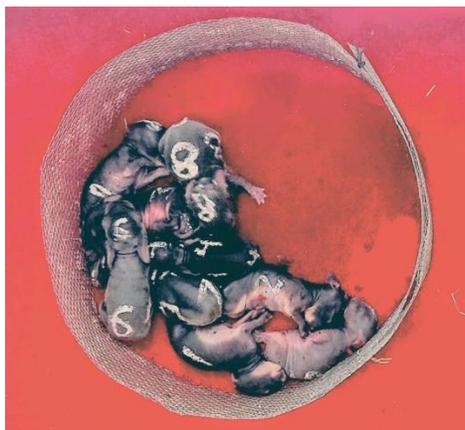


Figura 4. Agrupamiento de la camada

6.5. Conducta de marcaje por frotamiento del mentón.

Habitación. El DP 17 las crías se llevaron a un cuarto, donde se pesaron y se pintaron con pintura acrílica (Vinci Acrílica, Dixon, México) sobre su cabeza. Cada cría con un color diferente para su identificación individual de acuerdo a su orden de nacimiento. Posteriormente, se colocaron todas las crías de la camada en una (caja de inicio) con paredes de madera y piso de cristal (30 x 35 x 45 cm) con acceso a la arena de pruebas, esta última con paredes de acrílico de 3 mm (1 x 1.5 m). Ahí permanecieron 10 min para habituarse (Figura 5a), al terminar este tiempo se regresaron a su jaula en el bioterio. Dicho procedimiento se realizó por 3 días consecutivos, y tuvieron un día de descanso previo a la prueba de marcaje.

Pruebas de marcaje. Los DP 21, 22 y 23 se realizó la prueba de marcaje de manera individual, las crías fueron pesadas y se colocaron en la caja de inicio sin acceso a la arena de pruebas. Se presentó un cartel de identificación del individuo a una cámara de video colocada sobre la arena para filmar la prueba durante 10 min. Se abrió la puerta de la caja de inicio para que el individuo ingresara a la arena con paredes de acrílico de 3 mm (1 x 1.1 m), una vez que estuviera en ésta, se cerró el acceso a la caja de inicio para que permaneciera ahí y depositara sus marcas sobre una caja de cristal con textura rugosa, la cual se colocó previamente en el centro de la arena (Figura 5b). Al finalizar cada prueba, la cría se regresó a su jaula en el bioterio, se limpió la caja de inicio, la arena de pruebas y la caja de cristal para eliminar marcas del individuo antecedente.

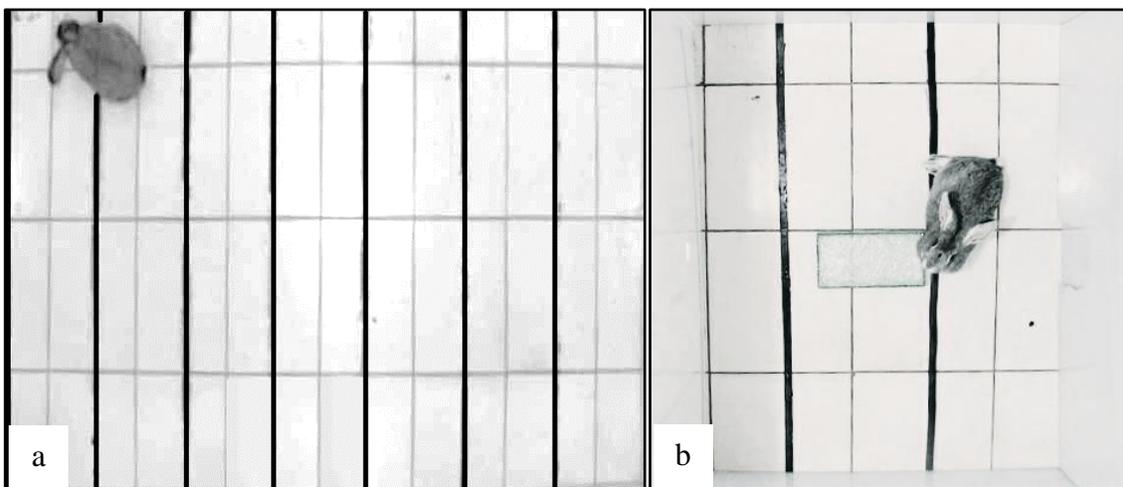


Figura 5. Pruebas conductuales. a) Habitación en la arena; b) Prueba de marcaje del mentón.

La habituación se realizó nuevamente en las etapas juvenil (DP 70-72) y adulta (DP 120-122), pero ahora de manera individual, en una arena con paredes de acrílico de 3 mm (1m x 2 m). Igualmente, la prueba de marcaje se repitió de manera individual en la edad juvenil (DP 74-76) y cuando alcanzaron la madurez sexual (DP 124-126) en la misma arena de pruebas que se utilizó durante la prueba en etapa pre destete. Posteriormente, a partir de las grabaciones de cada prueba se cuantificó la frecuencia de marcaje de cada individuo.

6.6. Cuantificación de estradiol. Una vez que las hembras alcanzaron la madurez sexual (DP 120), se le extrajo a cada coneja 1 mL de sangre de la vena central de la oreja por técnica de goteo, la cual fue recolectada en microtubos (MCT-150-C, Axigen, E.U) previamente rotulados con la información de cada coneja. Se centrifugaron a 3500 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 min con una centrifuga (MiniSpin EMC, eppendorf, E.U) (Arteaga y cols. 2008) para separar los componentes sanguíneos, de los cuales únicamente utilizamos el plasma, que se almacenó en microtubos (MCT-150-C, Axigen, E.U) y se conservó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriormente realizar la extracción de estradiol.

Extracción de estradiol. Los plasmas sanguíneos previamente obtenidos, se descongelaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se tomaron $100\text{ }\mu\text{L}$ con una pipeta automática (Transferpette S variable $10\text{-}100\text{ }\mu\text{L}$, BRAND, Alemania), que fueron colocados en tubos de ensayo (tubo 1) (PIREX, No. 9800, México), se adicionó 1 mL de éter y se agitó en un vortex (Vortex-Genie 2, Daigger, E.U) durante 30 s. Seguidamente, se llevaron a un ultracongelador (Ultra-Low-Freezer, So-Low, E.U), donde permanecieron el tiempo necesario hasta que la muestra se congeló. Posteriormente se decantó el éter sobre nadante de cada muestra en otro tubo (tubo 2). Al tubo 1 se adicionó nuevamente 1 mL de éter, y se repitió el procedimiento hasta el decante al tubo 2, una vez más. El tubo 2 se llevó a baño maría hasta evaporar todo el éter, luego se adicionó 1 mL de metanol, se agitó en vortex (Vortex-Genie 2, Daigger, E.U) por 2 min y se centrifugó a 13,000 rpm durante 5 min. Se dejó a temperatura ambiente hasta que se evaporó todo el metanol, se taparon

los tubos con parafilm (Bemis™, Parafilm™ M, E.U). Posteriormente se reservaron a 4 °C hasta la cuantificación de estradiol por Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA).

Ensayo por Inmunoabsorción ligado a Enzimas (ELISA). A las muestras ya extractadas, se les agregó 300 µL de Buffer ELISA y se agitaron en vortex (Vortex-Genie 2, Daigger, E.U) durante 10 min. Finalmente se realizó la cuantificación de estradiol siguiendo los pasos del manual contenido en el Kit (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U).

Para obtener la concentración de estradiol en pg/mL, se utilizó la herramienta de análisis de datos de la página web (caymanchem.com/analysis/elisa).

6.7 Análisis estadístico

Repetibilidad. Después de realizar las pruebas de marcaje en las tres etapas, calculamos la repetibilidad de la conducta de marcaje utilizando la frecuencia (número de marcas/10 minutos) de cada individuo en cada uno de los días de prueba. El concepto de repetibilidad ofrece información sobre los componentes que contribuyen a la variabilidad de los datos. Generalmente se conoce como correlación intraclase que describe la división relativa de la varianza dentro de un grupo y entre grupos (Martínez-González y cols. 2014). Un valor de repetibilidad alto, cercano a 1, indica un mayor nivel de consistencia del comportamiento individual entre las mediciones.

En el contexto de la investigación conductual, la repetibilidad se usa a menudo para cuantificar diferencias individuales estables (Bell y cols. 2008). Razón por la cual realizamos este análisis estadístico, ya que el objetivo principal de este trabajo de investigación es determinar el efecto de las interacciones tempranas dentro de la camada sobre las diferencias individuales en la conducta de marcaje.

La estimación de la repetibilidad basada en el GLMM se realizó usando el software R versión 3.6.3 (R development Core Team 2020), mediante la paquetería *rptR* (Nakagawa y

Schielzeth 2017) con una distribución de Poisson. La repetibilidad se calculó por separado intra etapa de pruebas (pre destete, juvenil y adulta). De igual manera se calculó la repetibilidad entre etapas, considerando la mediana de la frecuencia de los tres días de prueba por cada etapa. Para cada análisis de repetibilidad entre e intra etapa se consideró como factor aleatorio a la camada de origen. Los intervalos de confianza (95%) y la significación estadística (valores de p) se estimaron utilizando *bootstrapping* con 100 *resamplings*.

Path analysis. Calculamos la relación causal entre las variables con el *software* R versión 3.6.3 (R development Core Team 2020), por medio del análisis de ruta, con la paquetería *piecewiseSEM* (Lefcheck 2016), basado en el modelo lineal de efectos mixtos calculado con la paquetería *lme4* (Bates y cols. 2019). Empleamos un esquema para explorar la relación causal entre las variables (Figura 8). Comenzamos estableciendo las posibles relaciones directas entre el sexo de los hermanos adyacentes, tamaño de camada y posición intrauterina sobre la masa corporal al nacimiento, de igual manera exploramos las relaciones entre masa corporal al nacimiento, posición en el agrupamiento y ganancia en peso al destete. Para estimar el efecto causal de las variables predictoras sobre la conducta de marcaje, investigamos sus relaciones directas con sexo de los hermanos adyacentes, el tamaño de la camada, la posición intrauterina, la posición en el agrupamiento y la ganancia en peso al destete. Para evaluar las relaciones indirectas, consideramos las trayectorias entre las variables dependientes que llevan a la conducta de marcaje.

Todas las variables incluidas en este *path analysis*, son valores relativos calculados como el porcentaje de desviación de la media de la camada (Zepeda y cols. 2019).

También mostramos la R^2 para cada correlación incluida en el diagrama del *path analysis* (Figura 8), que se interpreta como la variación proporcional explicada excluyendo la contribución del factor aleatorio a la varianza explicada, es decir, proporciona un valor entre 0 y 1, que indica qué tanto está explicada la variable de respuesta por las variables predictoras (Nakagawa y Schielzeth 2017).

Modelo lineal generalizado mixto. El análisis se realizó con el software R versión 3.6.3 (R development Core Team 2020), utilizando la paquetería *lme4* (Bates y cols. 2019) para la aplicación de los modelos lineales de efectos mixtos. A través de este análisis estadístico evaluamos de manera preliminar, cuatro modelos. En el primero determinamos el efecto de las variables predictoras prenatales (sexo de los hermanos adyacentes, tamaño de camada y posición intrauterina) sobre la concentración de estradiol de las hembras en etapa adulta. En el segundo evaluamos las interacciones entre las variables prenatales, sobre la concentración de estradiol. En el tercero evaluamos el efecto de las variables predictoras postnatales (masa corporal al nacimiento, posición en el agrupamiento y ganancia en peso al destete), y cuatro, las interacciones de las variables postnatales, sobre la concentración de estradiol. En cada modelo incluimos la identidad de la camada como factor aleatorio, a fin de considerar estadísticamente que las crías procedentes de la misma camada compartieron las mismas condiciones tempranas.

7. Resultados

7.1. Repetibilidad

Para considerar que existen diferencias individuales en conducta, es necesario que ésta sea estable en el tiempo y consistente entre contextos. Por ello, en un primer paso probamos la consistencia en la frecuencia de marcaje intra tres etapas de edad, pre destete, juvenil, y adultez (Tabla 1), así como entre etapas (Tabla 2), a través del análisis de repetibilidad.

Tabla 1. Repetibilidad en frecuencia de marcaje del mentón intra etapa, pre destete, juvenil y adultez en hebras del conejo doméstico ($n=36$).

ETAPA	<i>Pre destete</i>			<i>Juvenil</i>			<i>Adultez</i>		
	DP 21	DP 22	DP 23	DP 74	DP 75	DP 76	DP 124	DP 125	DP 126
<i>Pre destete</i>									
DP 21	-	0.00	+0.28						
DP 22		-	0.00						
DP 23			-						
<i>Juvenil</i>									
DP 74				-	+0.86***	+0.75***			
DP 75					-	+0.83***			
DP 76						-			
<i>Adultez</i>									
DP 124							-	+0.89***	+0.84***
DP 125								-	+0.91***
DP 126									-

Se muestra la repetibilidad para la frecuencia de marcaje dentro de los días postnatales (DP) de cada etapa. Las repetibilidades significativas se resaltan en negritas y con asteriscos ($*p<0.05$, $**p<0.01$, $***p<0.001$). Las casillas en color gris se refieren a aquellos casos en los que la correlación no aplica.

No se observó consistencia en la frecuencia de marcaje entre los días de prueba 21, 22 y 23 de la etapa pre destete (Figura 6a). Sin embargo, los resultados mostraron alta repetibilidad dentro de las etapas juvenil y adulta. Las hembras con mayor frecuencia de marcaje en el DP 74 también mostraron mayor frecuencia en los DP 75 y 76 de la etapa juvenil (Figura 6b). Así mismo, las hembras con mayor frecuencia de marcaje en el DP 124, mostraron mayor frecuencia en los DP 125 y 126 de la etapa adulta (Figura 6c). Se muestra la línea de regresión, que mejor se ajusta a los puntos en las gráficas con repetibilidad significativa.

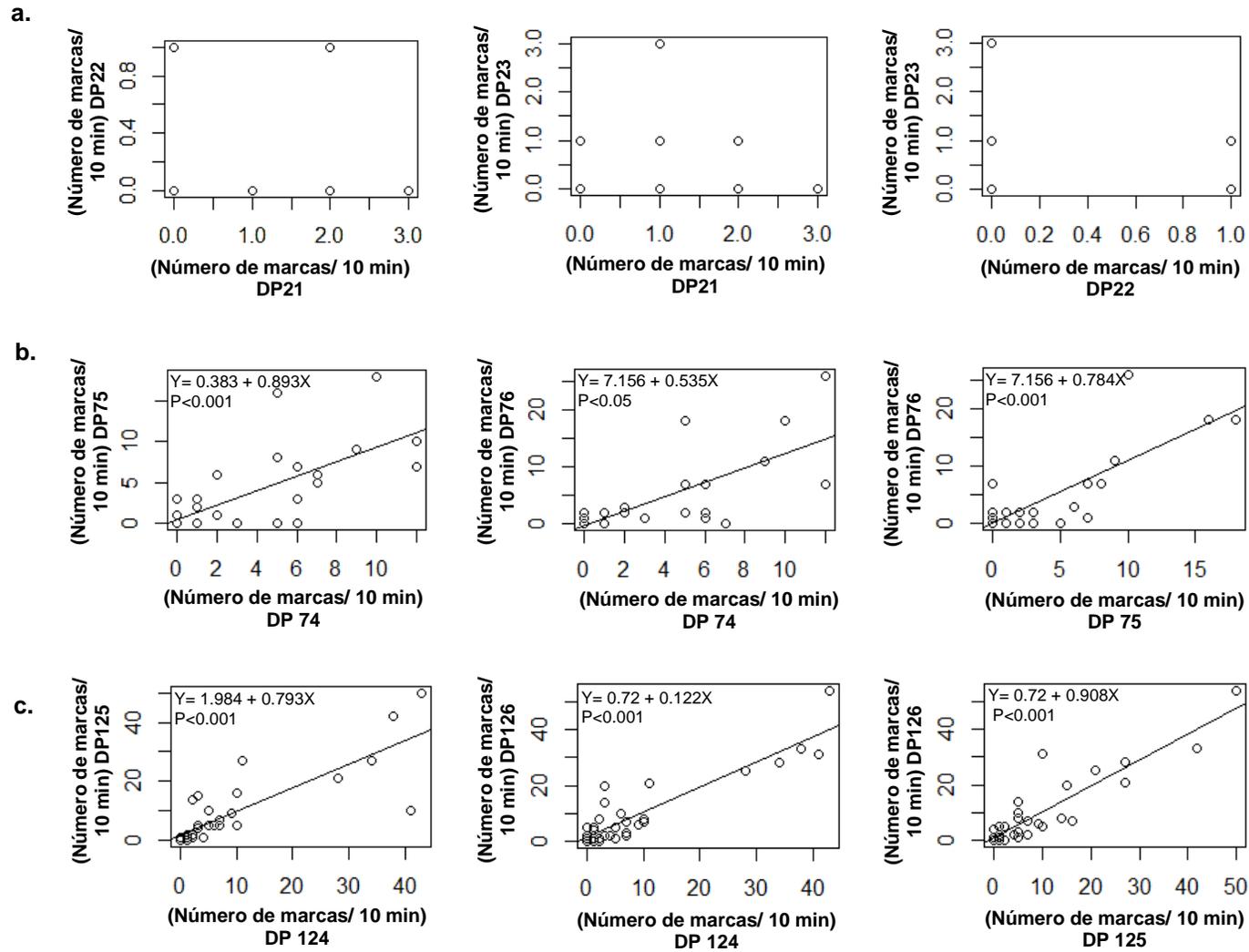


Figura 6. Correlaciones (incluida la línea de regresión) de frecuencia de marcaje del mentón entre (a) los DP 21, 22 y 23 de la etapa pre destete, (b) los DP74, 75 y 76 de la etapa juvenil y (c) entre los DP124,125 y 126 de la etapa adulta. Ver Tabla 1 para los resultados estadísticos.

Para los análisis de repetibilidad entre etapas se utilizó la mediana de frecuencia de marcaje de los tres días de cada etapa, además se consideró como factor aleatorio a la camada de origen.

Tabla 2. Repetibilidad en frecuencia de marcaje del mentón entre etapas en hebras del conejo doméstico (n=36).

	Etapa pre destete	Etapa juvenil	Etapa adulta
Etapa pre destete	-	+0.260	+0.260
Etapa juvenil		-	+0.262**
Etapa adulta			-

Se muestra la repetibilidad para la frecuencia de marcaje entre las tres etapas de edad. Las repetibilidades significativas se resaltan en negritas y con asteriscos (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001)

Los resultados de las pruebas de repetibilidad entre etapas mostraron que la frecuencia de marcaje no fue consistente en los individuos entre las etapas pre destete y juvenil (Figura 7a). Tampoco fueron consistentes entre las etapas pre destete y adulta (Figura 7b). Pero, si se observó consistencia entre la etapa juvenil y adulta (Figura 7c), se muestra la línea de regresión, que mejor se ajusta a los puntos en las gráficas con repetibilidad significativa. Lo cual significa que las hembras que desplegaron mayor frecuencia en la conducta de marcaje en la etapa juvenil, fueron quien marcaron más durante la etapa adulta. Por el contrario, las hembras que presentaron baja frecuencia de marcaje en la etapa juvenil, también mostraron menor marcaje en la etapa adulta.

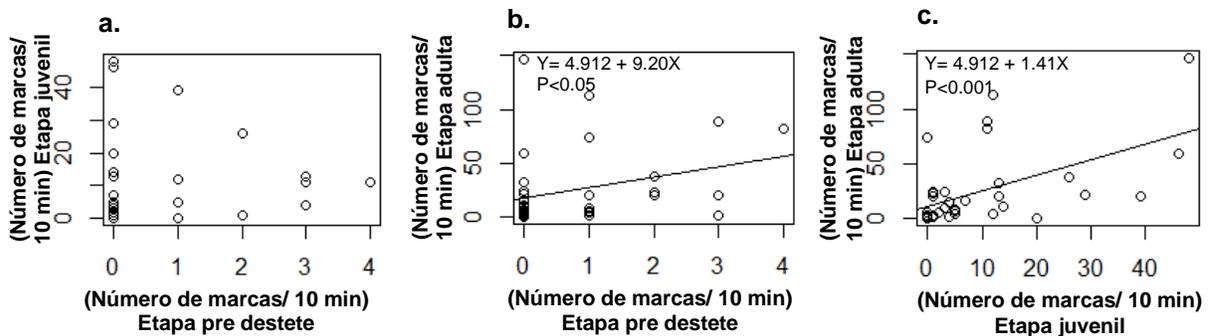


Figura 7. Correlaciones (incluida la línea de regresión) de frecuencia de marcaje del mentón entre las etapas (a) pre destete, (b) juvenil y (c) adulta. Ver Tabla 2 para los resultados estadísticos.

7.2 Path analysis

Los resultados mostraron un efecto directo positivo, estadísticamente significativo ($p=0.01$) del sexo de los hermanos adyacentes sobre la conducta de marcaje. Sin embargo, no se encontraron efectos significativos directos ni indirectos del resto de las variables predictoras, prenatales ni postnatales, sobre la conducta de marcaje. No obstante, tanto el tamaño de la camada, como la posición intrauterina, mostraron una asociación indirecta, estadísticamente significativa, con la ganancia en peso al destete, a través de la masa corporal al nacimiento y la posición en el agrupamiento.

El efecto total indirecto del tamaño de camada sobre la ganancia en peso al destete, se obtiene multiplicando los coeficientes *path* que llevan a la variable de respuesta. El tamaño de camada modula la masa corporal al nacimiento, éste afecta la posición en el agrupamiento que a su vez modula ganancia en peso al destete; por lo tanto, fue $0.443 \times 0.464 \times 0.452 = 0.09$. Y, el efecto total indirecto de la posición intrauterina a la ganancia en peso al destete, de igual forma, se obtiene multiplicando los coeficientes *path* que llevan a la variable de respuesta. La posición intrauterina afecta la masa corporal al nacimiento, que a vez modula la posición en el agrupamiento y finalmente afecta a ganancia en peso al destete, por consiguiente, el efecto indirecto fue $0.338 \times 0.464 \times 0.452 = 0.07$.

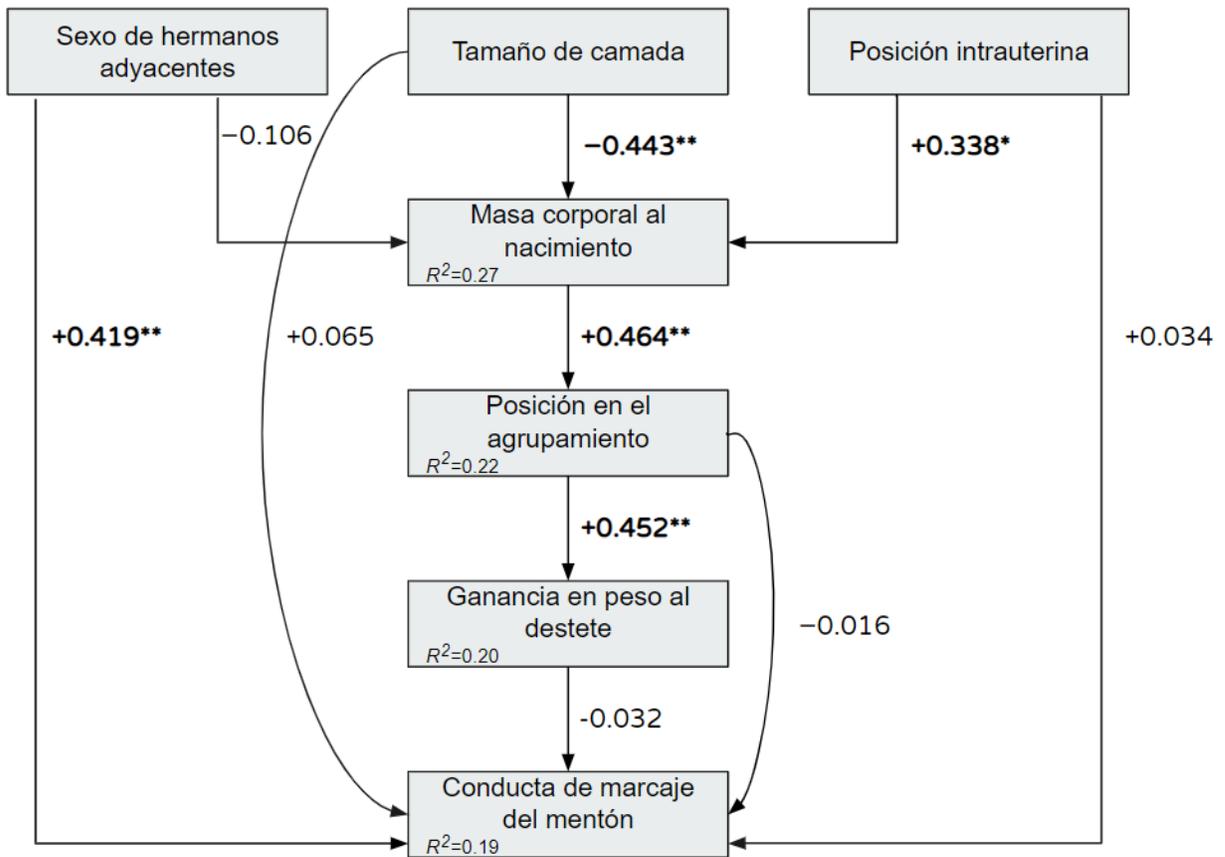


Figura 8. Esquema *path analysis*. Representación esquemática con las variables predictoras prenatales (sexo de los hermanos adyacentes, tamaño de camada y posición intrauterina), postnatales (peso al nacimiento, posición dentro del agrupamiento y ganancia en peso) y variable de respuesta (conducta de marcaje). Las flechas indican la relación entre las variables. Los valores contiguos a cada flecha representan el coeficiente *path*, y los signos indican el sentido de la relación entre las variables, relación positiva (+), relación negativa (-). Los valores significativos se resaltan en negritas y con asteriscos (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Los análisis se basaron en 36 hembras de 13 camadas. Se dan los valores de R^2 para cada relación incluida en el diagrama *path*.

7.3 Relación de interacciones prenatales y postnatales tempranas dentro de la camada y concentración de estradiol

No se encontraron relaciones significativas entre ninguna de las variables predictoras sobre la concentración de estradiol presente el plasma sanguíneo de las conejas adultas (estadísticos en la Tabla 3).

Tabla 3. Modelos lineales de efectos mixtos

Modelo	Variable de respuesta	Variabes predictoras	Intercepto	Estimado	P
1	Concentración de E ₂	Sexo de los hermanos adyacentes	+ 8.918	+ 0.199	0.723
		Posición intrauterina (PIU)	+ 8.918	+ 1.807	0.205
		Tamaño de camada	+ 8.918	- 0.193	0.707
2	Concentración de E ₂	Sexo de los hermanos adyacentes: PIU	+ 8.175	+ 1.747	0.388
		Sexo de los hermanos adyacentes: tamaño de camada	+ 8.175	- 0.100	0.543
		PIU: tamaño de camada	+ 8.175	+ 0.048	0.816
3	Concentración de E ₂	Masa corporal al nacimiento	+ 11.735	- 0.02	0.974
		Posición en el agrupamiento	+ 11.735	- 1.672	0.368
		Crecimiento al destete	+ 11.735	+ 0.062	0.687
4	Concentración de E ₂	Masa corporal al nacimiento:	+ 10.358	- 0.019	0.454
		Posición en el agrupamiento			
		Posición en el agrupamiento: crecimiento	+ 10.358	- 0.107	0.644

Los análisis se basaron en los datos de 22 hembras procedentes de 10 camadas. Por lo tanto, se consideró como factor aleatorio la identidad de la camada.

8. Discusión

8.1 Repetibilidad en la frecuencia de marcaje

Uno de los resultados más importantes evaluados en esta investigación es la estabilidad en la frecuencia de marcaje a lo largo del desarrollo de los individuos, medida a través del análisis de repetibilidad. Aunque no se observó repetibilidad en la frecuencia de marcaje dentro de la etapa pre destete, posiblemente debido a que en esta edad solo algunas hembras ya han iniciado la conducta de marcaje (González-Mariscal y cols. 1992). Sí encontramos clara repetibilidad en la frecuencia de marcaje del mentón dentro de las etapas juvenil y adulta, lo cual indica que las hembras que mostraron mayor frecuencia de marcaje en el DP 74 también mostraron mayor frecuencia de marcaje en los PD 75 y 76 de la etapa juvenil. De igual forma, las hembras que mostraron mayor frecuencia de marcaje en el DP 124 también mostraron mayor frecuencia de marcaje en los PD 125 y 126 de la etapa adulta. Además, encontramos repetibilidad significativa entre estas dos etapas, lo cual sugiere que la conducta de marcaje comienza a establecerse como rasgo de individualidad a medida que los individuos alcanzan la madurez sexual. Como lo describe González-Mariscal y cols. (1992), que la conducta de marcaje se estabiliza en cuanto las hormonas sexuales comienzan a incrementar, se intuye que esto ocurre alrededor del día 57 tanto en conejos silvestres (Mykytowycz 1965) como en conejo Nueva Zelanda mantenido en condiciones de laboratorio (González-Mariscal y cols. 1992), ya que a partir de este día se ha reportado un notable incremento en la frecuencia de marcaje.

Aunado a ello, la estabilidad individual de la conducta de marcaje dentro de la camada en la etapa juvenil y adulta podrían representar una medida significativa de individualidad con consecuencias ecológicas o evolutivas, por ejemplo, afectar o favorecer la capacidad y el éxito reproductivo de las hembras, a través de una conducta.

8.2 Path analysis.

Confirmamos el efecto prenatal del sexo de los hermanos adyacentes sobre la frecuencia de marcaje en las hembras (Bánszegi y cols. 2009). Observamos que el número de machos entre los que se desarrolla una hembra en el cuerno uterino si influye en las diferencias individuales en conducta a largo plazo. Las hembras que se gestaron entre dos machos presentaron mayor despliegue de marcaje, mientras que las hembras que se desarrollaron intrauterinamente entre dos hembras mostraron la menor frecuencia de marcaje. Lo cual, se propone está explicado por la diferenciación sexual cerebral generada por la difusión de testosterona producida por los fetos masculinos en el último tercio de gestación (vom Saal 1989). Durante este lapso de tiempo, los individuos se encuentran en un periodo sensible en el que todas las moléculas que llegan al feto pueden ejercer efectos en su desarrollo. Un ejemplo de ello es la dependencia de testosterona prenatal, en la expresión de la enzima aromatasa, enzima responsable de la conversión de testosterona a estradiol (Roselli y Klosterman 1998).

El resto de las variables predictoras, tamaño de camada, posición intrauterina, masa corporal al nacimiento, posición en el agrupamiento y ganancia en peso al destete, no explicaron de manera directa ni indirecta las diferencias individuales en la conducta de marcaje, por lo tanto, nuestra hipótesis de que las interacciones intracamada, prenatales y postnatales, modulan el desarrollo de diferencias individuales en la conducta de marcaje se cumplió parcialmente.

Posiblemente la conducta de marcaje al ser parte de la comunicación química esta modulada por el contexto social (Kent y cols. 2008) pero no por interacciones tempranas, si no por factores y experiencias de vida más tardíos. Otra explicación es que las diferencias individuales, están relacionados con la función biológica de la conducta de marcaje, sin embargo, aún no es clara cuál es esta función.

Adicionalmente, el análisis de trayectoria realizado, confirma el efecto de la posición intrauterina y el tamaño de camada sobre la masa corporal al nacimiento (Bautista y cols. 2015a), además proporciona la magnitud de los efectos, expresados en el valor del coeficiente *path*. A su vez, muestra que la masa corporal al nacimiento, condiciona la posición que ocupan las crías dentro del agrupamiento, a mayor peso corporal las crías ocupan posiciones más

centrales y ello les confiere ventajas en la competencia por recursos sobre las crías que ocupan posiciones periféricas (Bautista y cols. 2015b), dando como resultado mayor ganancia en peso (Bautista y cols. 2013). Estos resultados confirman la importancia de las interacciones entre hermanos de camada en la formación de diferencias individuales en la masa corporal al destete (Zepeda y cols. 2019). Pero también proporciona información adicional, la direccionalidad y magnitud de tales interacciones sobre la conducta de marcaje, mediante un modelo multivariable, que evalúa el efecto directo e indirecto.

8.3 Interacciones intracamada y concentración de estradiol

En el presente estudio se propuso evaluar el efecto de las interacciones tempranas dentro de la camada sobre la concentración de estradiol en hembras adultas. Sin embargo, no encontramos efecto alguno del sexo de los hermanos adyacentes, tamaño de camada, posición intrauterina, masa corporal al nacimiento, posición en el agrupamiento, ganancia en peso al destete o las interacciones de las variables predictoras. Ello, podría deberse a que posiblemente la síntesis de hormonas esteroideas, incluido el estradiol es variable y cambia a través del ciclo estral (Hernández 2008). Y a que los niveles de estrógenos no se almacenan, si no que se produce en respuesta a las hormonas HL y FSH (Balun 2009).

8.4 Conducta de marcaje y concentración de estradiol en etapa adulta

Sorprendentemente, contrario a lo reportado por Hudson y cols. (1990), no encontramos una asociación entre la conducta de marcaje y la concentración de estradiol plasmática en las hembras de conejo doméstico. Pese a que se ha descrito que la conducta de marcaje requiere bajas concentraciones de estrógenos para ser estimulada (Hudson y cols., 1990). Las diferencias en la concentración de estradiol no explicaron las diferencias individuales en conducta de marcaje. Esto posiblemente se deba a otros factores ambientales y fisiológicos que interaccionan con los niveles de estradiol para estimular la conducta de marcaje. En conejos de laboratorio, alojados individualmente y con una dieta estándar quizás sea poco probable encontrar

asociación de la conducta de marcaje y aspectos fisiológicos, ya que no hay factores ambientales diferentes entre individuos que pudieran generar diferencias fisiológicas (Arteaga y cols. 2008).

Nuestros datos actuales no permiten comparar entre los niveles séricos de estradiol ya que solo realizamos una medición. Sugerimos realizar al menos dos mediciones más en la madurez sexual, en este estudio. Y en un experimento futuro, realizar mediciones a etapas temprana del desarrollo, posiblemente a partir del día 57, cuando se observa un notable incremento en la conducta de marcaje (Mykytowycz 1965; González-Marical y cols. 1992) para evaluar la repetibilidad y observar si se comporta como una diferencia individual.

9. Conclusión

1. La frecuencia de marcaje del mentón que despliegan las hembras del conejo doméstico es un rasgo de individualidad estable en el tiempo.
2. El sexo de los hermanos adyacentes está asociado a las diferencias individuales estables en la frecuencia de marcaje observadas en las hembras adultas del conejo.

10. Perspectivas

1. Cuantificar la concentración de testosterona en las hembras para observar si el efecto del sexo de los hermanos adyacentes sobre los niveles hormonales al nacimiento se mantiene hasta la edad adulta.
2. Examinar si es la testosterona la que modula la conducta de marcaje tanto en machos como en hembras.
3. Evaluar cómo las diferencias individuales en conducta de marcaje del mentón se correlacionan con la supervivencia y reproducción de los individuos.

11. Referencias

- Agosta WC (1992). Chemical communication: the language of pheromones. Sci Am Libr, New York.
- Arteaga L, Bautista A, Martínez-Gómez M, Nicolás L, Hudson R (2008). Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiol Behav* 94:510-515.
- Bakker J, Baum MJ (2000). Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front Neuroendocrinol* 21:220-262.
- Bánszegi O, Altbäcker V, Bilkó Á (2009). Intrauterine position influences anatomy and behavior in domestic rabbits. *Physiol Behav* 98(3):258-262.
- Bánszegi O, Altbäcker V, Dúcs A, Bilkó, Á (2010). Testosterone treatment of pregnant rabbits affects sexual development of their daughters. *Physiol Behav* 101(4):422-427.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S (2019). Fitting linear mixedeffects models using lme4. *J Stat Softw* 67:1-48.
- Bautista A, Castelán F, Pérez-Roldán H, Martínez-Gómez M y Hudson R (2013). Competition in newborn rabbits for thermally advantageous positions in the litter huddle is associated with individual differences in brown fat metabolism. *Physiol Behav* 118:189-194.
- Bautista A, Drummond H, Martínez-Gómez M, Hudson R (2003). Thermal benefit of sibling presence in the newborn rabbit. *Dev Psychobiol* 43:208-215.
- Bautista A, Mendoza-Degante M, Coureaud, G, Martínez-Gómez M, Hudson R (2005). Scramble competition in newborn domestic rabbits for an unusually restricted milk supply. *Anim Behav* 70(5):1011-1021.
- Bautista A, Rödel HG, Monclús R, Juárez-Romero M, Cruz-Sánchez E, Martínez-Gómez M, Hudson R (2015a). Intrauterine position as a predictor of postnatal growth and survival in the rabbit. *Physiol Behav* 138:101-106.
- Bautista A, Zepeda JA, Reyes-Meza V, Martínez-Gómez M, Rödel HG, Hudson R (2015b). Contribution of within-litter interactions to individual differences in early postnatal growth in the domestic rabbit. *Anim Behav* 108:145-153.
- Bell AM, Hankison SJ, Laskowski KL (2008). The repeatability of behavior: a meta-analysis. *Anim Behav* 77(4):771-783.

- Cambiasso MJ, Cisternas CD, Ruiz-Palmero I, Scerbo MJ, Arevalo MA, Azcoitia I, García-Segura LM (2017). Interaction of sex chromosome complement, gonadal hormones and neuronal steroid synthesis on the sexual differentiation of mammalian neurons. *Jour of Neurogen*, 31(4):300-306.
- Coombes HA, Stockley P, Hurst JL (2018). Female Chemical Signalling Underlying Reproduction in Mammals. *J Chem Ecol* 44(9):851-873.
- Correa LA, Frugone MJ, Soto-Gamboa M (2013). Social dominance and behavioral consequences of intrauterine position in female groups of the social rodent *Octodon degus*. *Physiol Behav* 119:161-167.
- Crews D (1994). Animal sexuality. *Sci Ame* 7(1):108-114.
- Deutsch JA (1957). Nest building behaviour of domestic rabbits under semi-natural conditions. *Brit J of Anim Behav* 5(2):53-54.
- Dingemanse NJ, Both C, Drent PJ, Van Oers K, and Van Noordwijk AJ (2002). Repeatability and heritability of exploratory behaviour in great tits from the wild. *Anim Behav* 64:929-938.
- Dluzen D, Guan X, Vandenberg JG (1992). Puberty acceleration in mice induced with a partially purified male urine extract: Effects on catecholamine release from the olfactory bulbs and hypothalamus. *Brain Res*. 585:367-371.
- Drummond H, Vázquez E, Sánchez-Colón S, Martínez-Gómez M, Hudson R (2000). Competition for milk in the domestic rabbit: survivors benefit from littermate deaths. *Ethol* 106:511-26.
- Fernández A, Olvera S, Cárdenas, N (2015). Diferenciación sexual del cerebro. *Rev Ci* 16-23.
- García-Segura LM (2009). *Hormones and Brain Plasticity*. Oxford University Press.
- González O, García M, Domínguez R (2015). Las hormonas y la conducta sexual femenina. *Rev Ci* 24-29.
- González-Mariscal G, Melo AI, Zavala A, Beyer C (1990). Variations in chin-marking behavior of New Zealand female rabbits throughout the whole reproductive cycle. *Physiol Behav* 48:361-365.
- González-Mariscal G, Melo AI, Zavala A, Beyer C (1992). Chin-marking behavior in male and female New Zealand rabbits: Onset, development, and activation by steroids. *Physiol Behav* 52(5):889-893.

- Gosling S (2001). From mice to men: What we can learn about personality from animal research. *Psychol Bulletin* 127:45-86.
- Götz AA, Stefanski V (2007). Psychosocial maternal stress during pregnancy affects serum corticosterone, blood immune parameters and anxiety behaviour in adult male rat offspring. *Physiol Behav* 90:108-115.
- Hart BL (1985). *The behavior of domestic animals*. WH Freeman & Company, New York.
- Hayes RA, Richardson BJ, and Wyllie SG (2003). To fix or not to fix: The role of 2-phenoxyethanol in rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, chin gland secretion. *J. Chem. Ecol.* 29:1051-1064.
- Hernández M (2008). La reproducción. En: *Curtis biología*. Curtis H, Barnes NS, Schnek A, Massarini A (eds.) Medica Panamericana. Madrid, España. 782-803.
- Hudson R, Bautista A, Reyes-Meza V, Montor JM, Rödel HG (2011). The effect of siblings on early development: a potential contributor to personality differences in mammals. *Dev Psychobiol* 53:564-574.
- Hudson R, Distel H (1982). The pattern of behaviour of rabbit pups in the nest. *Behav* 79:255-271.
- Hudson R, Distel H (1989). Temporal pattern of suckling in rabbit pups: a model of circadian synchrony between mother and young. En: *Development of circadian rhythmicity and photoperiodism in mammals*. Boston, USA: Perinatol Press 83-102.
- Hudson R, Cruz Y, Lucio RL, Ninomiya J, Martínez-Gómez M (1999). Temporal and behavioral patterning of parturition in rabbits and rats. *Physiol Behav* 66:599-604.
- Hudson R, González-Mariscal G, Beyer C (1990). Chin marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated, ovariectomized rabbits. *Horm Behav* 24(1):1-13.
- Hull J, Hull D (1982). Behavioral thermoregulation in newborn rabbits. *J Comp Psychol* 96:143-147.
- Kent C, Azanchi R, Smith B, Formosa A, Levine JD (2008). Social context influences chemical communication in *D. melanogaster* males. *Cur Biol* 18:1384-1389.
- Bulum SE (2009). Fisiología y anatomopatología del eje reproductor femenino. En: *Williams tratado de endocrinología*. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM (eds.) ELSEVIER. Barcelona, España 590-693.

- Lefcheck JS (2016). PIECEWISESEM: piecewise structural equation modelling in R for ecology, evolution, and systematics. *Methods Ecol Evol* 7:573–579.
- Marchelewska-koj A, Pochrón E, Sliwowska A (1990). Salivary glands and preputial glands of males as source of estus-stimulating pheromone in female mice. *J Chem Ecol* 16:2817-2822.
- Martínez-González MA, Toledo E, Sánchez-Villegas A (2014). Análisis de concordancia validez y pronóstico. En: *Bioestadística amigable*. Martínez-González MA, Toledo E, Sánchez-Villegas A, Faulín J (eds.) ELSEVIER. Barcelona, España 455-485.
- Melo AI, Chirino R, Jiménez A, Cuamatzi E, Beyer C, González-Mariscal G. (2008). Effect of forebrain implants of testosterone or estradiol on scent-marking and sexual behavior in male and female rabbits. *Horms and Behav.* 54(5):676–683.
- Melo AI, González-Mariscal G (2010). Communication by olfactory signals in rabbits. Its role in reproduction. *Vit Horm* 83:351-371.
- Mykytowycz R (1962). Territorial function of chin gland secretion in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Nat Lond* 193:799.
- Mykytowycz R (1968). Territorial marking by rabbits. *Sci Amer* 218:116–126.
- Mykytowycz R (1965). Further observations on the territorial function and histology of the submandibular cutaneous (chin) glands in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Anim Behav* 13(4):400-412.
- Natoli E (1985). Behavioral responses of urban feral cats to different types of urine marks. *Behav* 94(3):234-243.
- Nakagawa S, Schielzeth H (2017). A general and simple method for obtaining R2 from generalized linear mixed-effects models. *Methods Ecol Evol* 4:133–142.
- Oropeza V, Morali G (2015). Las hormonas y la conducta sexual masculina. *Rev Ci* 30–36.
- Palacios L, Blasco J, Pagés T, Alfaro V (2005). *Fisiología animal*. Edicions Universitat Barcelona. Barcelona, España.
- Reyes-Meza V, Hudson R, Martínez-Gómez M, Nicolás L, Rödel HG, Bautista A (2011). Possible contribution of position in the litter huddle to long-term differences in behavioral style in the domestic rabbit. *Physiol Behav* 104:778-785.
- Roche DG, Careau V, Binning SA (2016). Demystifying animal personality (or not): why individual variation matters to experimental biologists. *J Exp Biol* 219:3832-3843.

- Rödel HG, Prager G, Stefanski V, von Holst D, Hudson R (2008). Separating maternal and litter size effects on early postnatal growth in two species of altricial mammals. *Physiol Behav* 93:826-834.
- Rödel HG, von Holst D, Kraus C (2009). Family legacies: short- and long-term fitness consequences of early life conditions in female European rabbits. *J Anim Ecol* 78:789-797.
- Rödel HG, Zapka M, Talke S, Kornatz T, Bruchner B, Hedler C (2015). Survival costs of fast exploration during juvenile life in a small mammal. *Behav Ecol Sociobiol* 69:205-217.
- Rodríguez-Manzo G (2015). Sexo y Cerebro. *Rev Ci* 10-15.
- Roselli CE, Klosterman SA (1998). Sexual differentiation of aromatase activity in the rat brain: effects of perinatal steroid exposure. *Endocrinol* 7:139.
- Ryan BC, Vandenberg JG (2002). Intrauterine position effects. *Neurosci Biobehav Rev* 26: 665–678.
- Sato T, Miyagawa S, Iguchi, T (2016). Subchapter 94G. Estradiol-17 β . In *Handbook of Hormones* (Vol. 5).
- Sinn DL, Apiolaza LA, and Moltchanowskyj NA (2006). Heritability and fitness-related consequences of squid personality traits. *J Evolut Biol* 19:1437-1447.
- Simpson ER (2002). Aromatization of androgens in women: Current concepts and findings. *Fertil Steril*, 77(4):6.
- Stamps JA, Groothuis TGG (2010). The development of animal personality: Relevance, concepts and perspectives. *Biol Rev* 85:301-325.
- von Saal FS (1981). Variation in phenotype due to random intrauterine position of male and female fetuses in rodents. *J Reprod Fertil* 62:633.
- von Saal FS (1989). Sexual differentiation in litter-bearing mammals: influence of sex of adjacent fetuses in utero. *J Anim Sci* 67(7):1824-1840.
- von Saal FS, Bronson FH (1978). In utero proximity of female mouse fetuses to males: effects on reproductive performance during later life. *Biol Reprod* 19:842-853.
- Wales NAM, Ebling FJ (1971). The control of the apocrine glands of the rabbit by steroid hormones. *J. Endocrinol* 51:763–770.
- Wilson EO (1970). Chemical communication within animal species. In: *Chemical Ecology*. Sondheim E, Simeone JB. Academic Press. New York 133-155.

- Wong A, Álvarez MA (2013). Hormones, brain and behavior. Notes on the psychology practice in the field of endocrinology. *Rev Cuba Endoc* 24(1):57-69.
- Wyatt T (2003). Animals in a chemical world. En: Pheromones and animal behavior, communication by smell and taste. Wyatt T. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom 1-22.
- Zepeda JA, Rödel HG, Monclús R, Hudson R, Bautista A (2019). Sibling differences in litter huddle position contribute to overall variation in weaning mass in a small mammal. *Behav Ecol Sociobiol* 73:165.

12. Glosario

- **Altricialidad:** Estado de inmadurez de las crías de una especie animal en el momento de nacer, lo que implica ojos cerrados, conductos auditivos cerrados o semicerrados, sin pelo, con severas limitaciones morfológicas.
- **Autocrino:** Tipo de secreción química en la cual, la secreción de una célula que afecta a la misma célula que la produce.
- **Bootstrapping:** Método que estima la distribución de muestreo al tomar múltiples muestras con reemplazo de una sola muestra aleatoria.
- **Citoarquitectura:** Patrón característico de disposición y organización de las células en cada tejido u órgano concreto.
- **Conspicuo:** De forma determinada y característica, que le hace sobresalir del resto.
- **Cromosoma:** Estructuras microscópicas presentes en todas las células del organismo que contienen los genes determinantes de rasgos heredables, y de control del crecimiento y desarrollo de cada componente de nuestro sistema físico y bioquímico.
- **Defeminización:** supresión del desarrollo de la morfología típica hembra (desarrollo de los conductos de Müller en las trompas de Falopio, el útero y la vagina) y de comportamiento predisposiciones.
- **Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA):** Método analítico que depende de la reacción antígeno-anticuerpo, usado en inmunología para medir anticuerpos, antígenos, proteínas y glicoproteínas en muestras biológicas.

- **Estro:** Período del ciclo estral relacionado con la máxima receptividad y fertilidad en las hembras de mamíferos que no son primates.
- **Gen SRY:** Por sus siglas en inglés (Sex Determining Region Y) es el gen ubicado en el brazo corto del cromosoma Y, que determina el sexo de los individuos en mamíferos marsupiales y placentarios mediante la activación de la diferenciación testicular.
- **Masculinización:** Producción de la morfología típica masculina (desarrollo de los conductos de Wolff en estructuras reproductivas masculinas) y predisposiciones conductuales.
- **Neurogénesis:** Proceso por el cual se producen nuevas neuronas en el cerebro.
- **Ovariectomía:** Extirpación quirúrgica de los ovarios.
- **Paracrino** Tipo de secreción química en la cual, la secreción de una célula que la produce afecta entornos celulares locales.
- **Sinapsis:** Espacio entre dos neuronas donde ocurre la transmisión de impulsos nerviosos entre las prolongaciones citoplasmáticas de una neurona y las dendritas o el cuerpo de otra.
- **Termoregulación:** Capacidad que tiene el organismo para regular su temperatura corporal.
- **Zona termoneutral:** Rango de temperatura del medio ambiente dentro del cual los individuos mantienen su temperatura corporal constante sin utilizar energía extra para termoregular.

13. Anexos

13.1 Cuantificación de estradiol por técnica de ELISA

La técnica de ELISA para cuantificación de estradiol en suero sanguíneo es un método inmunoenzimático directo de tipo sándwich en el que los antígenos de la muestra forman un complejo con los anticuerpos unidos a la placa, posteriormente se une un anticuerpo marcado, generando una reacción colorimétrica que se mide por absorbancia.

13.1.1 Preparación de buffers, muestra y reactivos específicos de la prueba

Buffer ELISA. Diluir 10 mL del vial buffer Elisa [10X] (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U) en 90 mL de agua ultra pura y disolver completamente.

Solución buffer de lavado. Diluir 5 mL del vial wash Buffer [400X] (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U) con agua ultra pura y aforar a un volumen de 2 L. Después, agregar 1 mL de polisorbato (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U).

Preparación de la muestra. Reconstituir las muestras previamente extractadas adicionando 300 μ L de buffer ELISA y mezclar durante 10 minutos en vortex (Vortex-Genie 2, Daigger, E.U).

Standard ELISA de Estradiol. En un tubo de ensayo limpio marcado con el #0, transferir 100 μ L de estradiol ELISA Standard (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U) y adicionar 900 μ L de agua ultra pura. Posteriormente, numerar 8 tubos de ensayo de #1 al #8. Colocar alícuotas de 900 μ L de Buffer ELISA al tubo #1 y de 600 μ L a los tubos #2 al #8. Transferir 100 μ L del tubo #0 al tubo #1 y mezclar. Seriadamente diluir el estándar extrayendo 300 μ L del tubo #1 y transferirlo al tubo #2, mezclar. Después, extraer 300 μ L del tubo #2 y transferirlo al tubo #3, mezclar. Repetir este procedimiento hasta llegar al tubo #8

Trazador AChE de estradiol. Reconstituir el vial dtn Estradiol AChE Tracer (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U) con 6 mL de Elisa Buffer

Antisuero ELISA de estradiol. Reconstituir el vial dtn Estradiol Antiserum (Estradiol ELISA Kit, Cayman Chemical, E.U) con 6 mL de Elisa Buffer

13.1.2 Configuración de placa de prueba

La placa incluye 96 pocillos listos para usar, distribuidos como se indica en la imagen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	Blk	S1	S5	1	5	9	13	17	21	25	29	33	Blk: Blanco
B	Blk	S1	S5	1	5	9	13	17	21	25	29	33	TA: Actividad Total
C	NSB	S2	S6	2	6	10	14	18	22	26	30	34	NSB: Unión no específico
D	NSB	S2	S6	2	6	10	14	18	22	26	30	34	
E	B0	S3	S7	3	7	11	15	19	23	27	31	35	B0: Máxima unión
F	B0	S3	S7	3	7	11	15	19	23	27	31	35	
G	B0	S4	S8	4	8	12	16	20	24	28	32	36	S1-S8: Standards 1-8
H	TA	S4	S8	4	8	12	16	20	24	28	32	36	1-36: Muestra

13.1.3 Realización de la prueba

1. Agregar 100 µL de buffer ELISA a los pozos NSB y 50 µL a los pozos B0.
2. Agregar 50 µL del tubo #8 a los pozos marcados como (S8). Agregar 50 µL del tubo #7 a cada uno de los siguientes pozos del standard, marcados como (S7). Continuar con este proceso hasta el standard 1.
3. Agregar 50 µL de muestra a cada uno de los pozos correspondientes con el número de muestra.
4. Agregar 50 µL de trazador AChE de estradiol a cada pozo, excepto los pozos TA y Blk.
5. Agregar 50 µL del antisuero ELISA de estradiol a cada pozo, excepto los pozos TA, NSB y Blk inmediatamente después de agregar el trazador.

- 6.** Cubrir los 96 pozos de la placa con la hoja de cubierta e incubar por 2 horas a temperatura ambiente en un agitador orbital (marca).
- 7.** Transcurrido el tiempo de incubación, reconstituir el reactivo de Ellman's 100 dtn con 20 mL de agua ultra pura.
- 8.** Vaciar los pozos y enjuagar cinco veces con 300 μ L de solución buffer de lavado.
- 9.** Agregar 200 μ L de Ellman's a cada pozo
- 10.** Agregar 5 μ L del trazador al pozo TA.
- 11.** Cubrir la placa nuevamente con la hoja de cubierta e incubar por 1 hora a temperatura ambiente en obscuridad en un agitador orbital (marca).
- 12.** Finalizado el tiempo de incubación, limpiar la placa de la parte inferior con un pañuelo para eliminar huellas dactilares y suciedad.
- 13.** Retirar cuidadosamente la hoja de cubierta y leer la absorbancia de la placa a una longitud de onda entre 405-420 nm.

14. Resúmenes de memorias de congresos nacionales o internacionales

Cartel 30

23rd BIOLOGICAL BASES OF BEHAVIOUR INTERNATIONAL COURSE

Interacciones Intra-camada, Diferencias Individuales en La Ontogenia de La Conducta de Marcaje del Mentón y Concentración de Estradiol en Hembras Adultas del Conejo

Yesenia Fernández^{1*}, José Alfredo Zepeda², Leticia Nicolás³, Robyn Hudson⁴, Amando Bautista³

1 Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

2 Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

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

4 Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Las diferencias individuales en conducta y fisiología son en cierta parte, resultado de las interacciones intra-camada en etapas prenatales y posnatales que experimentan los individuos en su desarrollo temprano. Por un lado, en mamíferos placentales, el sitio en el que se desarrollan los fetos dentro del cuerno uterino, influye en el peso corporal al nacimiento y el desarrollo individual (Roshan y Greene 1936; Breuer y Claussen 1977; Argente y cols. 2003; Bautista y cols. 2015a). Por otro lado, la presencia de hermanos machos adyacentes dentro del cuerno uterino influye sobre la diferenciación sexual de las hembras. Los fetos femeninos que se desarrollan entre dos machos tienden a mostrar anatomía, rasgos fisiológicos y de comportamiento masculinizados, esto debido a la exposición a testosterona producida por sus hermanos machos (revisado en Ryan y Vandenberg 2002).

En la etapa posnatal las interacciones intra-camada en función del peso relativo de sus miembros son capaces de modular las diferencias individuales (Bautista y cols. 2015b). Aunado a lo anterior, las interacciones tempranas dentro de la camada se asocian a diferencias individuales en conducta cuando son adultos; por ejemplo, las crías ligeras al nacimiento muestran un estilo conductual más proactivo que sus hermanas más pesadas (Reyes-Meza y cols. 2011). Con base en lo anterior es posible que estas interacciones tempranas entre los miembros de la camada también estén asociadas a diferencias individuales en otras conductas del conejo doméstico.

2-5 octubre 2018

Tlaxcala, México.

Diferencias Individuales En La Conducta De Marcaje Por Frotamiento Del Mentón Asociadas A Interacciones Tempranas Intra-camada, En Hembras Del Conejo Doméstico.

Yesenia Fernández^{1*}, José Alfredo Zepeda², Leticia Nicolás³, Robyn Hudson⁴ y Amando Bautista³

1 Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. 2 Preparatoria Alfonso Calderón Moreno, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 3 Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. 4 Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

fernandez_1227@hotmail.com Tel. 2461757848

Los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) sexualmente maduros de ambos sexos despliegan la conducta de marcaje del mentón, la cual consiste en frotar repetidamente su barbilla sobre objetos conspicuos. En esta conducta, que forma parte importante del sistema de comunicación química de este mamífero, existen diferencias individuales altamente estables en la frecuencia con la que los conejos marcan. En este trabajo queremos investigar en condiciones de laboratorio la posible influencia de factores ambientales prenatales y posnatales, asociados a la presencia de los hermanos, sobre el desarrollo de las diferencias individuales en la frecuencia de marcaje en hembras del conejo. Trabajamos con 30 hembras (provenientes de 11 camadas). Como factores del ambiente prenatal determinamos para cada hembra su posición intrauterina (si se gestó proximal=0; o distalmente=1 dentro del cuerno uterino) y el sexo de sus hermanos adyacentes durante su gestación. Y postnatalmente, su peso corporal al nacimiento (dependiente del tamaño de camada) y su crecimiento (como indicador de competencia con sus hermanos). La variable de respuesta fue la frecuencia de marcaje del mentón en los Días Posnatales 20, 21 y 22 (pre-destete), 74, 75 y 76 (etapa juvenil) y 124, 125 y 126 (madurez sexual). Los resultados sugieren que las interacciones intracamada, tanto prenatales como postnatales, están asociadas a las diferencias individuales estables en la frecuencia de marcaje observadas en las hembras adultas del conejo. Agradecimientos: CONACyT: 926571 y PAPIIT-IN212416



2020 ABS VIRTUAL CONFERENCE

JOIN US LIVE JULY 28 - 31, 2020



[Browse Program](#) / [Lightning Talks](#) / [On-Demand Ligh...](#) / [Presentation](#)

[Back to Session](#)

Presentation Details



Stable individual differences in chin-marking behavior across development in domestic rabbits

Yesenia Fernández¹, José Alfredo Zepeda², Lourdes Arteaga³, Robyn Hudson⁴, Margarita Martínez-Gómez⁴, Heiko G. Rödel⁵, Amando Bautista³.

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico. ²Preparatoria Alfonso Calderón Moreno, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Mexico. ³Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico. ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, Ciudad de México, Mexico. ⁵Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée UR 4443, Université Sorbonne Paris Nord, F-93430, Paris, Paris, France

Abstract

Individual differences in behavior, including developmental origins, is a subject of importance in behavioral biology. We studied individual differences in the performance of a natural behavior in the domestic European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), chin-marking. Chin marking, an important part of the chemical communication system of the rabbit, consists in the deposition of secretion of the submandibular glands by both sexes on objects by animals repeatedly rubbing their chin over them. We investigated the stability of differences among littermates in the frequency of chin marking in daily 10-minute tests when animals were juveniles (74 to 76 days old) and when sexually mature (124 to 126 days old); 36 females, 28 males from 14 litters. We found that the frequencies of marking among juveniles ($R = 0.870$, $p < 0.001$), at sexual maturity ($R = 0.819$, $p < 0.001$), and between the juvenile and adult ages ($R = 0.263$, $p < 0.05$) were significantly repeatable across time. Thus, our results suggest that differences in the frequency of chin-marking behavior can be a meaningful measure of individuality. (Grants from ECOS-NORD 299016, CONACyT: YF-926571 and PAPIIT-UNAM IN213120).

[Watch Presentation](#)

[View Q&A](#)

[Ask a Question](#)

Watch Presentation

Stable individual differences in chin-marking behavior across development in domestic rabbits

Yesenia Fernández¹, José Alfredo Zepeda², Lourdes Arteaga³, Robyn Hudson⁴, Margarita Martínez-Gómez⁴, Heiko G. Rödel⁵, Amando Bautista³

1. Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala.
2. Preparatoria Alfonso Calderón Moreno, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
3. Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.
4. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
5. Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée UR 4443, Université Sorbonne Paris Nord, F-93430, Villetaneuse, France.



Accepted abstract

Individual differences in chin marking behavior associated with early intra-litter interactions in female domestic rabbits

Yesenia Fernández¹, José Alfredo Zepeda², Lourdes Arteaga³, Robyn Hudson⁴, Amando Bautista³

¹ Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ² Preparatoria Alfonso Calderón Moreno, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ³ Centro Tlaxcala Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ⁴ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Sexually mature rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) display chin-marking behavior, which consists of repeatedly rubbing their chin glands on conspicuous objects. In this behavior, which is an important part of the chemical communication system of this mammal, rabbits show highly stable individual differences in its frequency. Although this behavior has been widely described, little is known about the origin of the individual differences in chin marking. In this work, we investigated in laboratory conditions, the possible influence of early environmental factors associated with the presence of siblings on the development of such differences in 35 female rabbits (from 11 litters). For each individual, prenatally we registered its intrauterine position and the sex of its adjacent siblings: females between two females (0M), females between a female and a male (1M), and females between two males (2M), and postnatally body mass at birth and growth (as a proxy for intralitter competition for milk). Individual frequency of chin marking on postnatal days 20 to 22 (preweaning), 74 to 76 (juvenile stage) and 124 to 126 (sexual maturity) was also measured. Preliminary results show repeatability in the frequency of marking between the juvenile and adult stage ($r_s=0.06$, $p=0.005$), and repeatability during the adult stage ($r_s=0.8$, $p < 0.0001$). We also found that 2M females marked significantly more than 1M and 0M females ($H=7.42$, $p=0.025$). So far, our results suggest that only sex of adjacent siblings prenatally predicts individual differences in chin marking. However, we are currently working on a statistical model for identifying possible direct and indirect influences of intralitter interactions, prenatal and postnatal, on individual differences in chin marking frequency (Grant from PAPIIT-UNAM IN213120).