



Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

---

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Maestría en Ciencias Biológicas

**Aportaciones al Modelo Teórico de Competencia  
Espermática: Evidencias en la Rata de Laboratorio**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Biól. Maria Reyna Fuentes Morales

**Co-directores de Tesis**

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina



Universidad Autónoma de Tlaxcala

---

---

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Maestría en Ciencias Biológicas

**Aportaciones al Modelo Teórico de Competencia  
Espermática: Evidencias en la Rata de Laboratorio**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Biól. Maria Reyna Fuentes Morales

**Comité Tutorial**

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina

Dra. Adriana Morales Otal

Dr. René Zempoalteca Ramírez



Universidad Autónoma de Tlaxcala  
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS

COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA  
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 **María Reyna Fuentes Morales** 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

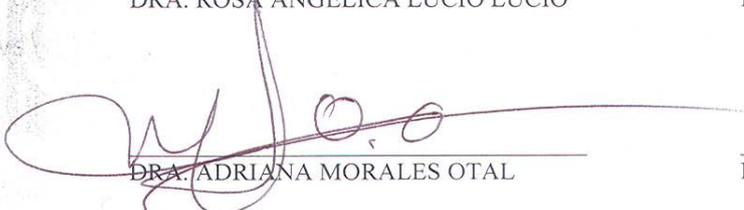
**“Aportaciones al Modelo Teórico de Competencia Espermática: evidencias en la rata de laboratorio”.**

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
TLAXCALA, TLAX., NOVIEMBRE 12 DE 2012

  
DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO

  
DR. GABRIEL GUTIÉRREZ OSPINA

  
DRA. ADRIANA MORALES OTAL

  
DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ

  
DR. ARMANDO FERREIRA NUÑO



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



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: [posgradoctbcuat@gmail.com](mailto:posgradoctbcuat@gmail.com)  
Tlaxcala, Tlax.

La presente tesis fue realizada bajo la dirección de la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio y del Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina. Los estudios copulatorios y espermatobioscópicos del proyecto fueron realizados en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México).

El proyecto de investigación fue desarrollado dentro del programa de la Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala el cual está registrado en el Padrón Nacional de Posgrados del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

El presente trabajo fue financiado parcialmente por CONACYT: Proyecto 105502 (RAL) y por la UNAM: Proyecto DGAPA-PAPIIT IN215208 (GGO y RAL). Además, CONACYT otorgó la beca de posgrado 248124 (MRFM).

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio, por su apoyo y paciencia, y sobretodo por su confianza y amistad. También le agradezco, sinceramente, por haberme brindado un poco de su conocimiento e impulsarme a seguir en el camino de la ciencia.

Al Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina, co-director de esta tesis, por sus valiosas aportaciones para mejorar este trabajo de investigación. Además, quiero agradecerle por el entusiasmo que mostró ante este proyecto y por enseñarme a ver la ciencia más allá del conocimiento.

A los miembros de mi comité tutorial: a la Dra. Adriana Morales Otal por su confianza y sus valiosas sugerencias, al Dr. René Zempoalteca Ramírez, por su apoyo, cuando se lo solicité, y por sus aportaciones y al Dr. Armando Ferreira Nuño por sus consejos y sugerencias para mejorar esta tesis.

A todos los profesores de la maestría por compartir un poco de su experiencia.

A todas las personas de la administración, biblioteca, recepción y bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, por todo su apoyo.

A mis amigos Vero Rodríguez y José Luis Tlachi, por compartir agradables momentos y darme ánimos y consejos. Muchas gracias.

A Ana Ingrid por su apoyo y colaboración para éste proyecto de investigación y por su amistad.

A la Sra. Graciela Fabris y al Sr. Ale Yautenzi por sus consejos y buenos deseos.

A mis compañeros de la maestría.

## RESUMEN

La competencia espermática se define como la presencia simultánea de espermatozoides vivos de dos o más machos dentro de los conductos femeninos, donde los espermatozoides de uno y otro macho compiten para fertilizar al óvulo. Una de las predicciones de la teoría de la competencia espermática es que los machos ajustan el número de espermatozoides que inseminan en la hembra de acuerdo con el riesgo de competencia espermática. El modelo predice que cuando existe bajo riesgo de competencia espermática, los machos disminuyen el gasto espermático, es decir, eyaculan menos espermatozoides. Y cuando los machos evalúan alto riesgo de competencia espermática entonces incrementan el número de espermatozoides eyaculados. Los modelos teóricos de competencia espermática no realizan predicción respecto al desempeño copulatorio masculino en situaciones competitivas. Lo anterior, sería importante considerarlo porque se ha mostrado que en las poblaciones, al menos de ratas macho y hombres, existen tres fenotipos copulatorios: rápido, normal y lento. Estos fenotipos, en la rata macho, son diferentes en su latencia de eyaculación y/o el número de eyaculaciones en un tiempo determinado. Los rápidos eyaculan en promedio a los  $247 \pm 45$  s, los normales a los  $717 \pm 133$  y los lentos a los  $1697 \pm 80$  s.

La presente tesis tuvo como objetivo evaluar los efectos de la competencia entre ratas macho de diferente fenotipo copulatorio sobre los parámetros de la conducta copulatoria (número de montas e intromisiones, intervalo inter-intromisión y latencias de monta, intromisión y eyaculación). Asimismo, se comprobaron experimentalmente las predicciones realizadas por el modelo teórico de competencia espermática en cuanto al incremento en el número de espermatozoides e incluyeron otros parámetros como la movilidad, viabilidad y morfología espermáticas, además del color y viscosidad del fluido seminal y el peso, tamaño y volumen del tapón seminal.

Se evaluaron machos sexualmente expertos de fenotipo copulatorio rápido y normal sin y con enfrentamiento. En el contexto sin enfrentamiento copuló un macho con una hembra de estro inducido (grupo control); en el contexto con enfrentamiento copularon dos machos del mismo o diferente fenotipo con una hembra. En cada contexto se evaluaron los parámetros copulatorios y del eyaculado. En el contexto con enfrentamiento sólo se consideraron los datos del primer macho que eyaculó. El eyaculado se obtuvo de las hembras.

La población de estudio consistió de 78 machos, 21 fueron de fenotipo rápido y 23 de fenotipo normal y 17 fueron no-copuladores. Mientras que otros 6 rápidos y 11 normales fueron omitidos porque fueron los rivales perdedores. Aquellos cuya latencia de eyaculación, durante 6 entrenamientos copulatorios, fue en promedio de  $292.80 \pm 33.37$  s se denominaron de fenotipo rápido y los de latencia de eyaculación que en promedio fue de  $768.92 \pm 64.47$  s, fueron considerados de fenotipo normal. Los machos de fenotipo rápido y normal no mostraron diferencias significativas en sus latencias de eyaculación durante los cuatro últimos entrenamientos.

Observamos que los machos de **fenotipo rápido** durante el enfrentamiento con otros de su mismo fenotipo disminuyeron su latencia de eyaculación, número de intromisiones y el intervalo interintromisión comparados con los parámetros de los machos sin enfrentamiento copulatorio. Respecto al eyaculado se observó que el 75% de los machos presentaron viscosidad aumentada, mientras que cuando no fueron enfrentados sólo el 25% presentaron el aumento. El fluido seminal fue blanquecino en ambos contextos con y sin enfrentamiento en

todos los machos. La cuenta espermática se incrementó debido al enfrentamiento, mientras que la movilidad espermática progresiva fue prácticamente abolida.

Cuando los machos de **fenotipo rápido** se **enfrentaron** con machos de **fenotipo normal**, ganaron el enfrentamiento los rápidos porque disminuyeron su latencia de eyaculación comparados con el grupo control, sin enfrentamiento. El enfrentamiento provocó que la viscosidad del fluido seminal aumentara en el 50% de los machos, mientras que en el grupo sin enfrentamiento sólo el 25% presentó viscosidad aumentada. La cuenta espermática incrementó significativamente *versus* el grupo sin enfrentamiento. Respecto a la movilidad espermática progresiva ésta disminuyó en el enfrentamiento respecto al grupo control.

Cuando machos de **fenotipo normal** se **enfrentan** contra machos de **su mismo fenotipo**, se observó que los machos redujeron significativamente su latencia de eyaculación respecto a los machos del contexto sin enfrentamiento. El 30% de los machos con enfrentamiento presentó viscosidad normal, en el otro 30% la viscosidad fue baja y el 40% restante presentó viscosidad aumentada. En tanto que el 62.5% de los machos sin enfrentamiento copulatorio presentó viscosidad normal, el 12.5% viscosidad baja y el 25% viscosidad aumentada. Respecto al color del fluido seminal, durante el enfrentamiento, el 70 % de los machos presentó color blanquecino y el 20 % mostró casi transparente. Finalmente, en el contexto sin enfrentamiento, el 88.9% de los machos presentó color blanquecino. No se encontraron diferencias significativas entre la cuenta ni en la movilidad espermáticas ni con ni sin enfrentamiento.

En ningún contexto (con o sin enfrentamiento) ni en ningún tipo de enfrentamiento (rápido *vs* rápido, rápido *vs* normal, normal *vs* normal) se encontraron diferencias significativas en los parámetros del tapón seminal, viabilidad ni morfología espermáticas. Hubo correlación positiva entre el intervalo interintromisión y latencia de eyaculación con la movilidad espermática progresiva en el enfrentamiento entre machos de fenotipo rápido. También se encontró correlación, aunque negativa entre la latencia de eyaculación y la movilidad espermática en el enfrentamiento entre machos de fenotipo normal.

Concluimos que el enfrentamiento entre machos influye tanto en la conducta copulatoria como en el eyaculado. Tal influencia es diferente dependiendo del fenotipo copulatorio de los rivales. Así que, el contexto en el que se produce un eyaculado es importante para determinar su calidad. Proponemos que el modelo teórico de competencia espermática propuesto por Parker debería incluir: a) los fenotipos copulatorios a ser enfrentados b) los efectos del enfrentamiento sobre la ejecución de la conducta copulatoria, así como c) otras características del eyaculado además del número espermático.

# ÍNDICE

	Página
<b>RESUMEN</b>	i
<b>1.1 INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1 Competencia espermática	1
1.2 Modelos teóricos de competencia espermática	2
1.3 Competencia espermática y calidad del eyaculado	7
1.4 Competencia espermática y conducta copulatoria	8
1.5 Estrategias reproductivas en mamíferos ante la competencia espermática	9
a) Iniciación de la cópula	9
b) Múltiples eyaculaciones	9
c) Aguardar o vigilar la cópula	10
1.6 Conducta copulatoria y eyaculado de la rata macho ( <i>Rattus norvegicus</i> )	11
1.7 Fenotipos copulatorios en la rata	11
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	13
<b>3. HIPÓTESIS</b>	14
<b>4. OBJETIVOS</b>	15
4.1 Objetivo general	15
4.2 Objetivos específicos	15
<b>5. METODOLOGÍA</b>	16
5.1 Animales	16
5.2 Análisis de la cópula	16
5.2.1 Parámetros copulatorios	16
5.3 Análisis del eyaculado	17
5.3.1 Obtención del fluido contenido en los cuernos uterinos “semen”	17
5.3.2 Parámetros del fluido contenido en los cuernos uterinos “semen”	18
5.3.2.1 Parámetros macroscópicos cualitativos	18
5.3.2.2 Procedimiento para la evaluación de los parámetros	18
5.3.2.3 Parámetros microscópicos	18

5.3.2.4 Procedimiento para la evaluación de los parámetros.....	19
5.3.3 Parámetros del tapón seminal.....	20
5.3.3.1 Parámetros macroscópicos.....	20
5.4 Prueba estadística.....	21
<b>6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>22</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
7.1 Fenotipos copulatorios encontrados en la población de ratas.....	24
7.2 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Rápidos.....	26
7.2.1 Parámetros copulatorios.....	26
7.2.2 Parámetros del eyaculado.....	27
7.3 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Normales.....	29
7.3.1 Parámetros copulatorios.....	29
7.3.2 Parámetros del eyaculado.....	30
7.4 Enfrentamiento copulatorio entre machos Normales vs Normales.....	32
7.4.1 Parámetros copulatorios.....	32
7.4.2 Parámetros del eyaculado.....	33
7.5 Correlaciones entre parámetros copulatorios y del eyaculado.....	34
7.5.1 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Rápidos.....	34
7.5.2 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Normales.....	36
7.5.3 Enfrentamiento copulatorio entre machos Normales vs Normales.....	36
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>37</b>
8.1 Fenotipos copulatorios encontrados.....	37
8.2 Efecto del enfrentamiento sobre la cópula y el eyaculado.....	39
8.2.1 Cópula y eyaculado sin distinción de fenotipos.....	39
8.2.2 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos rápidos vs rápidos.....	42
8.2.3 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos rápidos vs normales.....	44
8.2.4 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos normales vs normales.....	45
8.3 Correlaciones entre parámetros copulatorios con los del eyaculado de machos de diferente fenotipo durante el enfrentamiento.....	51
<b>9. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>53</b>

<b>10. REFERENCIAS</b> .....	54
<b>11. PUBLICACIONES</b> .....	64
11.1 Congresos nacionales.....	64
Fuentes-Morales MR, Pichardo Cruz AI, Gutiérrez-Ospina G, Lucio RA. 2011. Características de la cópula y el eyaculado en presencia de un rival: diferencias entre monoandria y biandria en rata. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. León, Gto.	
Fuentes-Morales MR, Pichardo Cruz AI, Gutiérrez-Ospina G, Lucio RA. 2012. El fenotipo copulatorio y el eyaculado se modifican durante la competencia entre machos. XXXVII Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Pachuca, Hgo.	
11.2 Congresos internacionales.....	70
Fuentes-Morales MR, Gutiérrez-Ospina G, Lucio RA. 2010. Efecto de la monoandria, biandria y poliandria sobre la cópula, eyaculado y serotonina epididimaria en la rata. XV Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax.	
Fuentes-Morales MR, Pichardo Cruz AI, Gutiérrez-Ospina G, Lucio RA. 2011. Biandria y eyaculación: latencia cuenta y movilidad espermáticas. El papel de la serotonina periférica. XVI Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax.	
Fuentes-Morales MR, Pichardo Cruz AI, Gutiérrez-Ospina G, Lucio RA. 2012. Plasticidad fenotípica y variaciones del eyaculado: resultados insospechados de la competencia espermática. XVII Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax.	
11.3 Artículos.....	83
R.A. Lucio, Y. Cruz, A.I. Pichardo, M.R. Fuentes-Morales, A.L. Fuentes-Farias, M.L. Molina-Cerón y G. Gutiérrez-Ospina. 2012. The physiology and ecophysiology of ejaculation. Tropical and Subtropical Agroecosystems. SUP 1: S113- S127.	

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Competencia espermática

En condiciones naturales, las hembras y los machos de diversas especies se aparean con muchas parejas, dando lugar a los diferentes contextos copulatorios como la poliginia (cópula entre más de dos hembras con un macho), la poliandria (cópula entre más de dos machos con una hembra) y la promiscuidad (cópula en la que los machos se aparean con todas las hembras y viceversa, Calhoun 1962, Endries y Adler 2005).

La cópula con múltiples parejas tiene como consecuencia que los machos compitan por las hembras y por ser el padre de más descendientes. Darwin en su teoría de la selección sexual propone la competencia entre machos. Los machos pelean por ganar el acceso a las hembras para poder aparearse, o bien las hembras eligen a los machos más atractivos para aparearse con ellos (Darwin 1871). En muchos mamíferos esta competencia resulta en la evolución de diversos comportamientos y caracteres sexuales secundarios llamativos (Breed y Washington 1991). La competencia masculina abarca las etapas pre-copulatoria, copulatoria y post-copulatoria, que incluyen repertorios conductuales complejos y procesos fisiológicos que regulen el dispendio de sus recursos reproductivos, *i.e.*, el semen. Así, a lo largo de la evolución han aparecido diferentes estrategias reproductivas masculinas que incrementan la posibilidad de ser el padre de las crías.

Parker sugirió que además de la competencia entre machos por ser el más fuerte o atractivo, los machos también compiten espermáticamente. La competencia espermática se define como la presencia simultánea de espermatozoides vivos de dos o más machos dentro de los conductos femeninos, donde los espermatozoides de uno y otro macho compiten para fertilizar al óvulo (Parker 1970). Una de las predicciones de la teoría de la competencia espermática es que los machos ajustan el número de espermatozoides que depositan en la hembra de acuerdo con el riesgo de competencia espermática (Parker 1982). Se sugiere que, en especies promiscuas, los machos producen y expulsan más espermatozoides, lo que les confiere más ventajas reproductivas porque es más probable que fertilicen los óvulos (Moller 1989, Suárez *et al.* 1990, Birkhead y Moller 1998). Así que, la competencia espermática es

una fuerza selectiva poderosa que ha moldeado el comportamiento reproductivo, la morfología y fisiología del aparato reproductor y el fenotipo de los gametos masculinos (Birkhead y Moller 1998).

Por mucho tiempo se consideró que la competencia espermática era un proceso raro en los mamíferos eutéridos porque muchas hembras no poseen órganos para almacenar espermatozoides, presentan solo un periodo en el que pueden copular y tanto el óvulo como el espermatozoide sobreviven por corto tiempo (Parker 1984). Sin embargo, estudios recientes han evidenciado que la competencia espermática es más común en mamíferos de lo que antes se pensaba.

Una de las evidencias que comprueban la existencia de la competencia espermática es la información revelada por estudios observacionales. Éstos se basan en los patrones de organización social, por ejemplo, en especies de primates monógamos (gorilas) se asume que no hay competencia espermática. Mientras que en especies que forman grupos de múltiples machos y hembras, como los chimpancés, existen altos niveles de competencia espermática (Harcourt *et al.* 1981, Moller 1988). Sin embargo, este tipo de aseveraciones pueden ser engañosas o sobreestimadas y las observaciones del comportamiento tienen aún limitaciones. Así que, la evidencia más directa de que existe competencia espermática es que las hembras engendran, en una misma camada, crías de diferentes padres. Esto se ha evidenciado mediante el uso de técnicas moleculares para determinar paternidad (Birkhead y Moller 1998).

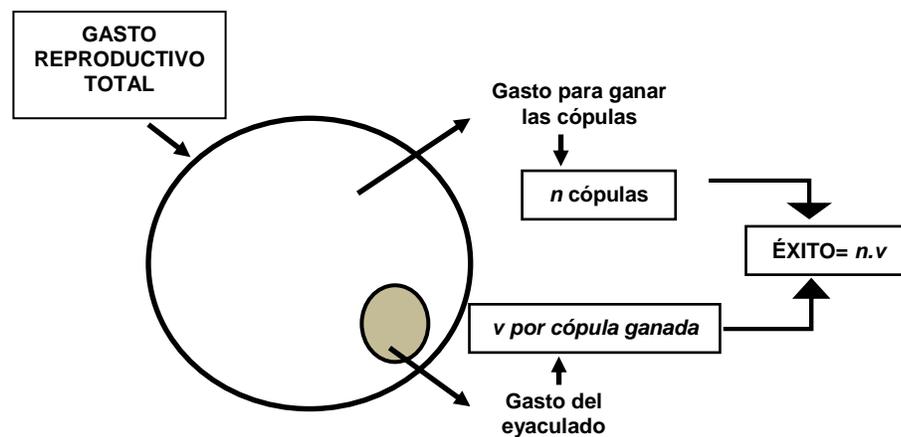
Actualmente se sabe que es común que las hembras copulen con más de un macho, esto sucede en roedores, ungulados, primates entre otros (Dewsbury 1984, Ginsberg y Rubenstein 1990, Smuts *et al.* 1987, Moller y Birkhead 1989).

## **1.2 Modelos teóricos de competencia espermática**

Los modelos teóricos de competencia espermática se han estudiado para determinar la evolución de las características del eyaculado en términos de volumen expelido y número de espermatozoides. Estos modelos conocidos como juegos evolutivos entre machos rivales predicen las estrategias, respecto al gasto espermático cuando hay competencia espermática (Birkhead y Moller 1998). Estas estrategias evolutivamente estables dependen del gasto

energético reproductivo que tiene dos componentes: el gasto disponible para el eyaculado y el gasto para la cópula. El primero se refiere al número de espermatozoides eyaculados de un macho por cópula. Es importante mencionar que el número espermático es limitado, es decir, la producción espermática es finita. Si los machos incrementan el gasto del eyaculado también aumenta la probabilidad de ser el padre de las crías, pero se reduce el número de cópulas que pueden ejecutar (Parker y Maynard-Smith 1990, **Fig. 1**).

El segundo componente se refiere al gasto de energía disponible para la cópula, este involucra energía para buscar a la hembra, luchar para tener acceso a la hembra o defenderla de otros rivales. Se ha mostrado que el número de cópulas disminuye conforme el gasto del eyaculado incrementa. Así que, los machos presentan diferentes estrategias en las que solo pueden realizar un gasto de energía para que no tenga consecuencias sobre su supervivencia y su éxito reproductivo (Parker y Maynard-Smith 1990, **Fig. 1**).



**Fig. 1** En el juego de la competencia espermática el gasto reproductivo total del macho es fijo, éste se divide en gasto energético disponible para ganar la cópula y gasto del eyaculado. Así que hay una disyuntiva entre los dos gastos, lo que determinan el éxito reproductivo.  $n$ =número de cópulas logradas y  $v$ =energía gastada al incrementar el eyaculado por cada cópula ganada (modificado de Parker y Maynard-Smith 1990).

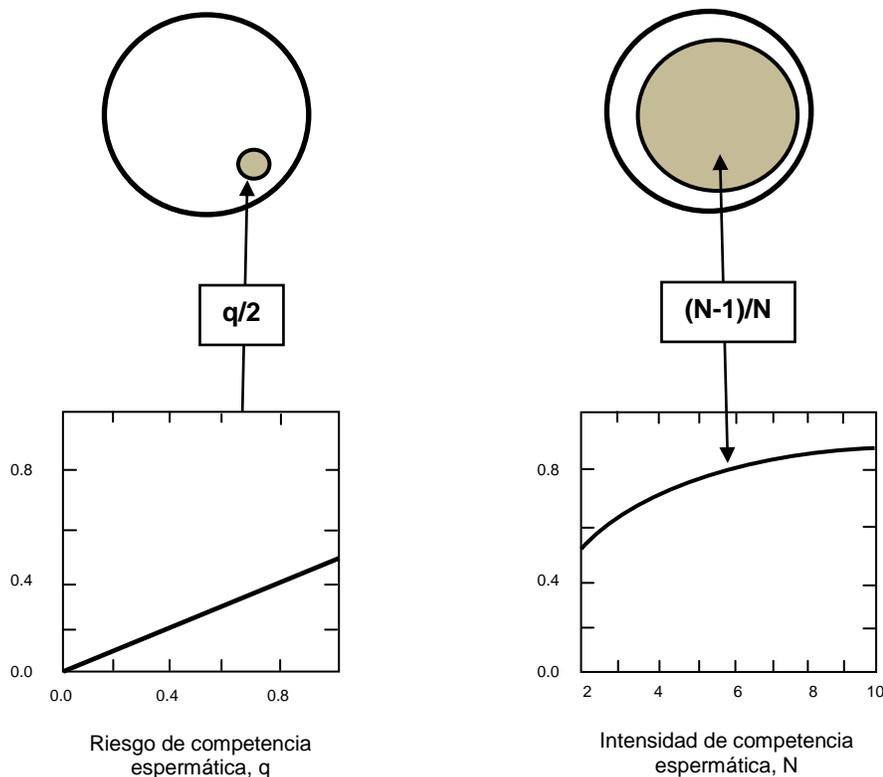
En la actualidad, existen varios modelos teóricos para evaluar los efectos de la competencia espermática enfocados principalmente al gasto del eyaculado. El **modelo del riesgo de competencia espermática** se refiere a la copula entre un macho con una hembra, donde el macho puede inferir que la hembra copuló previamente o que puede copular con otro macho en el futuro (Parker *et al.* 1997). Se dice que los machos utilizan señales olfativas,

táctiles, auditivas o visuales que les indican el riesgo de competencia espermática (Pound y Gage 2004). El modelo teórico predice que cuando hay bajo riesgo de competencia espermática los machos disminuyen el gasto espermático, es decir, eyaculan menos espermatozoides. Y cuando evalúan alto riesgo de competencia espermática entonces incrementan el número de espermatozoides eyaculados (Parker *et al.* 1997, **Fig. 2A**).

El **modelo de la intensidad de competencia espermática** involucra la cópula entre varios machos con una hembra, así que distintos eyaculados de machos rivales entran en competencia. El modelo teórico predice que cuando hay alta intensidad de competencia espermática, determinada por el número de rivales, los machos aumentan el número de espermatozoides eyaculados (Parker y Begon 1993, **Fig. 2B**).

**A) MODELO DEL RIESGO**

**B) MODELO DE LA INTENSIDAD**



**Fig. 2** Modelos teóricos del riesgo e intensidad de competencia espermática. **A)** Cuando el riesgo ( $q$ =probabilidad de doble cópula) y **B)** la intensidad de competencia espermática ( $N$ =número de rivales o de eyaculados que compiten) aumentan, los machos incrementan el número de espermatozoides eyaculados (modificado de Parker *et al.* 1996).

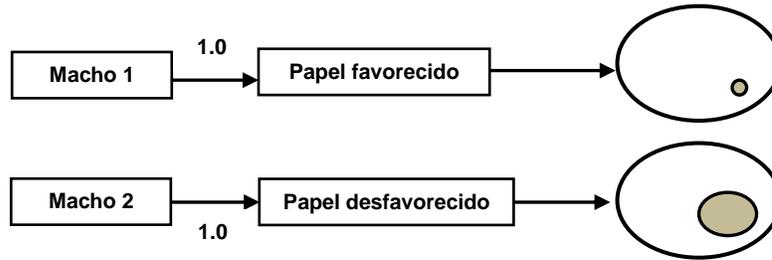
Ambos modelos (riesgo e intensidad) consideran que los machos en competencia tienen información de la existencia de la competencia espermática y tienen un rango determinado de estrategias del eyaculado para encarar la competencia. Además, se asume que la hembra no tiene preferencia por ningún macho, considerando que la competencia espermática es la única causa que determina cuáles espermatozoides fertilizarán a los óvulos.

Otros modelos teóricos se han realizado para predecir las estrategias jugadas por dos machos rivales ante diferentes condiciones de competencia espermática.

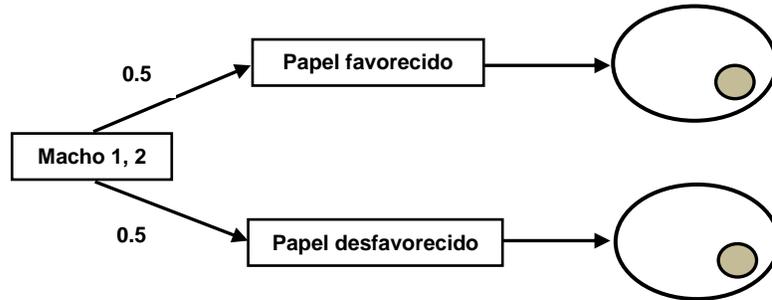
El **modelo del desempeño no-azaroso** considera que los espermatozoides del primer macho (macho 1) o del segundo que eyacula (macho 2) pueden ser favorecidos. Así que cada macho conoce el papel (primer o segundo macho que eyacula) que desempeñará siempre durante la competencia. Al macho que eyacula primero, se le atribuye un papel favorecido y el que eyacula en segundo lugar un papel desfavorecido. La estrategia predicha por los modelos teóricos es que los machos con el papel favorecido eyaculan menos espermatozoides que los machos desfavorecidos. Así que, si un macho siempre está en el papel desfavorecido, compensa ese papel al eyacular más espermatozoides durante las pocas oportunidades que tiene de copular (Parker 1990a, **Fig. 3A**).

El **modelo del desempeño azaroso** considera que los machos no tienen información del papel que juegan en la competencia espermática, así que es al azar, y cada macho tiene la misma probabilidad de jugar el papel 1 ó 2. El modelo teórico predice que para este caso los machos 1 y 2 deberían eyacular igual número de espermatozoides (Parker 1990a, **Fig. 3B**).

A) DESEMPEÑO NO-AZAROSO



B) DESEMPEÑO AZAROSO



**Fig. 3** Modelos teóricos de desempeño no-azaroso y azaroso de competencia espermática. **A)** El modelo de desempeño no-azaroso, donde un macho tiene el papel favorecido y el otro el desfavorecido predice que el macho desfavorecido incrementa el número de espermatozoides eyaculados comparado con el macho favorecido y **B)** el modelo de desempeño azaroso predice que los machos 1 y 2 tienen la misma probabilidad de estar en el papel favorecido o desfavorecido y por lo tanto, eyaculan igual número de espermatozoides cuando hay competencia espermática (modificado de Parker *et al.* 1990a).

Existen variantes de los modelos teóricos de competencia espermática, una de ellas, evalúa cuando uno de los dos machos rivales tiene más información acerca de la probabilidad de competencia espermática que su oponente. Esto se denomina asimetría de la información. Tal asimetría puede producir el reparto desigual del número de espermatozoides inseminados en la hembra (Parker 1990b). Otra variante es cuando en la competencia espermática participan machos relacionados y no relacionados genéticamente (hermanos, Parker 2000). En este contexto, los modelos teóricos sugieren que cuando se enfrentan dos machos hermanos, disminuyen el número de espermatozoides eyaculados. Sin embargo, cuando se enfrentan medios hermanos incrementan el reparto espermático y aún más cuando son machos sin ningún parentesco genético (Parker 2000).

Actualmente, existen diversos modelos teóricos que combinan varias situaciones dentro de la competencia espermática, y cada uno predice, con modelos matemáticos, la estrategia más adecuada en cuanto al reparto del eyaculado. Estos modelos teóricos de Parker

de competencia espermática abrieron un nuevo horizonte de investigación que rápidamente permitió descubrir adaptaciones fascinantes.

### **1.3 Competencia espermática y calidad del eyaculado**

Una consecuencia de la competencia espermática es el incremento en la masa relativa de los testículos respecto a la masa corporal (Gomendio *et al.* 1998). La competencia espermática, a su vez, se debe al aumento en el porcentaje de tejido que produce espermatozoides (Moller 1989), lo que resulta en mayor número de espermatozoides almacenados en el epidídimo y más espermatozoides eyaculados (Moller 1989). Se ha mostrado que algunos mamíferos con testículos relativamente grandes tienden a eyacular más espermatozoides (Moller 1989). Este incremento en el número espermático aumenta la oportunidad de que los espermatozoides fertilicen más óvulos (Short 1979 y Harcourt *et al.* 1981).

En los contextos competitivos, los modelos teóricos sugieren que los machos que eyaculan más espermatozoides ganan mayor paternidad (Parker y Pizzari 2010). Además, los estudios experimentales han sugerido que los machos que transfieren más espermatozoides por eyaculado ganan más fertilizaciones *versus* los machos en los contextos no competitivos (Birkhead y Moller 1998). Sin embargo, el eyaculado es muy costoso de producir (Dewsbury 1982) y los machos tienen que repartir de manera prudente los espermatozoides entre varias eyaculaciones en respuesta a señales que les indican que están en riesgo de competencia con otros rivales (Parker *et al.* 1997, Wedell *et al.* 2002). La teoría del reparto espermático predice que, cuando el riesgo o intensidad de competencia espermática son altos, se incrementa el número de espermatozoides inseminados (Parker *et al.* 1997). Por lo tanto, la competencia espermática ha influido fuertemente en la evolución del número espermático (Parker 1970).

Por otra parte, también se ha sugerido que la competencia espermática afecta las características de calidad del eyaculado como la proporción de espermatozoides móviles, viables y morfológicamente normales, ya que estos parámetros son esenciales para superar las barreras físicas y químicas de los conductos genitales femeninos y lograr la fertilización (Gómez-Montoto *et al.* 2011). La movilidad espermática es requerida para que el espermatozoide se desplace, y sobrepase dos barreras físicas, una en el cérvix y la otra, en la

unión útero-tubal y llegar hasta el sitio de la fertilización. Además, la movilidad espermática es necesaria para penetrar las capas del óvulo (Suárez *et al.* 1990). La morfología espermática se ha relacionado ampliamente con la movilidad, ya que los espermatozoides anormales algunas veces son inmóviles o se mueven de manera inefectiva siendo así, incapaces de llegar hasta el óvulo (Pukazhenthii *et al.* 2006). Además, la viabilidad espermática es determinante para el éxito reproductivo del macho. Sólo unos cuantos espermatozoides son capaces de fertilizar, la mayoría mueren en el aparato reproductor femenino (Scott 2000).

Considerando que algunas especies forman un tapón seminal que se forma de las secreciones de las glándulas sexuales accesorias y que además funciona como una estrategia reproductiva, también es factible evaluar los efectos de la competencia espermática sobre este componente del eyaculado. En los roedores se sugiere que cuando el riesgo de competencia es alto incrementa la probabilidad de producir tapones más grandes (Ramm *et al.* 2005), ya que, si el tapón funciona como una adaptación defensiva (Voss 1979 y Dewsbury 1988) se espera que se mantenga o incremente su tamaño.

#### **1.4 Competencia espermática y conducta copulatoria**

Los modelos teóricos de competencia espermática no realizan ninguna predicción respecto al desempeño de la conducta copulatoria masculina bajo una situación competitiva. Sin embargo, la teoría de la facilitación social menciona que la presencia de un animal adicional, durante la cópula, tiene un efecto facilitador sobre la conducta (Zajonc 1965). Además, algunos estudios experimentales han relacionado la competencia espermática con elementos del comportamiento copulatorio y la reproducción (Lanier *et al.* 1979).

Se ha sugerido que en grupos de mamíferos donde la competencia espermática es común, los machos tienden a iniciar la cópula en menor tiempo y a copular rápidamente (Gomendio *et al.* 1998). También se ha mostrado que los machos de especies poliándricas, como el chimpancé, realizan montas breves (7.5 s) comparados con especies monándricas como los gorilas (1.5 min; Short 1979, Harcourt *et al.* 1980).

Otro patrón motor copulatorio que se modifica por la competencia espermática es la intromisión. En los primates, las intromisiones prolongadas se asocian con la poliandria

(Dixson 1991). El intervalo posteyaculatorio es un parámetro que también cambia, por ejemplo, los macacos macho (*Macaca nemestrina*) lo reducen de 43 a 17.5 min si observan a otro macho copular con la hembra con la que se había apareado previamente (Buss y Estep 1984).

También se ha sugerido que los roedores machos de algunas especies modifican su conducta copulatoria en respuesta al riesgo de competencia espermática (Stockley y Preston 2004). Así que, la competencia espermática ha promovido la aparición de una amplia diversidad de comportamientos copulatorios (Dixson y Anderson 2004).

Así que, las fuerzas selectivas de la evolución parecen ser más intensas en especies con sistemas de apareamiento poliándricos y promiscuos (Breed y Washington 1991). Por ello, es necesaria la aparición de estrategias reproductivas para disminuir la competencia espermática.

### **1.5 Estrategias reproductivas en mamíferos ante la competencia espermática**

Los machos deben afrontar la competencia espermática eficazmente para engendrar mayor descendencia, mediante estrategias reproductivas que han sido seleccionadas a lo largo de la evolución y que les confieren ventajas adaptativas. Algunos ejemplos son los siguientes:

**a) Iniciación de la cópula.-** Se ha sugerido que los machos que son más activos al iniciar la cópula logran más inseminaciones, lo que probablemente les da una ventaja reproductiva al ser el padre de más crías. Los machos de algunas especies poliándricas de roedores esperan menos tiempo para copular cuando se les presenta una hembra que aquellos de especies monándricas (Dewsbury 1981). Asimismo, esto se ha observado en primates como los gorilas y babuinos (Harcourt 1981).

**b) Múltiples eyaculaciones.-** En muchos grupos de mamíferos las hembras son promiscuas y sólo en una fase del ciclo reproductivo se aparean y liberan sus óvulos. Además, los óvulos y los espermatozoides tienen corto tiempo de vida. Así que, se sugiere que si los machos rivales copulan en un momento cercano a la ovulación promueven la competencia espermática. Esto garantiza que haya espermatozoides viables durante la ovulación. Si las

cópulas ocurren antes de la ovulación, los espermatozoides pueden morir y no fecundar (Gomendio *et al.* 1998).

En varias especies de roedores, conejos, cerdos y humanos hay evidencias de que el tiempo en el que ocurre la cópula es crucial para el éxito de la fertilización (Dewsbury 1988a, Chen *et al.* 1989, Dziuk 1970, Wilcox *et al.* 1995). Así que, eyacular múltiples veces con la misma hembra, a diferentes intervalos de tiempo, garantiza a los machos que sus espermatozoides estén presentes en el sitio de la fertilización cuando ocurra la ovulación. Otra sugerencia es que el patrón de múltiples eyaculaciones surgió para incrementar el número de espermatozoides inseminados en la hembra (Smuts *et al.* 1987). Se sabe que los espermatozoides deben superar diversos obstáculos en el tracto reproductor femenino y que la mayoría de estas células mueren, por lo que eyacular múltiples veces reemplazaría los espermatozoides que mueren e incrementaría la probabilidad de fertilizar al óvulo (Smuts *et al.* 1987).

En los mamíferos, se ha observado que el 80% de las especies realizan múltiples eyaculaciones (Dewsbury 1972). Además, esta estrategia se asocia con mayor número de descendientes (Bedford *et al.* 1984, Dewsbury 1984).

**c) Aguardar o vigilar la cópula.-** Esta estrategia incluye la lucha con otros machos para evitar que la hembra copule con ellos, realizar cópulas prolongadas, formar un candado genital o depositar el tapón copulatorio (Gomendio *et al.* 1998). El tapón seminal se forma por componentes del semen, principalmente secreciones de las glándulas sexuales accesorias y es característico de los roedores (Voss 1979). Una de las funciones de éste es obstaculizar la entrada vaginal, lo que evita que otro macho eyacule rápidamente en la misma hembra. La otra función es que el tapón al adherirse a las paredes vaginales favorece el transporte transcervical espermático que ocurre en los primeros 10 min posteyaculatorios en el caso de la rata (Matthews y Alder 1977, 1978).

## **1.6 Conducta copulatoria y eyaculado de la rata macho (*Rattus norvegicus*)**

Cuando una rata macho se encuentra con una hembra le olfatea la región perineal, vocaliza y la persigue. Esto provee estimulación olfativa y auditiva. La rata hembra, si está en su fase fértil, responde realizando conductas llamadas proceptivas (corre en zig-zag, da pequeños brincos y mueve la cabeza rápidamente lo que resulta en el orejeo; Beach 1966, Sachs y Meisel 1988). Estas conductas proveen estimulación visual. La conducta copulatoria incluye patrones motores de monta e intromisión intercaladas que culminan con el patrón motor de eyaculación y se le conoce como serie eyaculatoria (Larsson 1956, Lucio y Tlachi 2008).

Durante la eyaculación el macho deposita el semen en la vagina de la hembra. El semen está formado por espermatozoides y secreciones de las glándulas sexuales accesorias (próstata, coagulantes, seminales y bulbo uretrales). Inmediatamente después de que el macho eyacula, la mayor parte de las secreciones de las glándulas accesorias se endurecen en la vagina y forman el tapón seminal. El intervalo posteyaculatorio que dura aproximadamente 5 min evita al macho retirar su propio tapón y con ello interrumpir su propio transporte espermático (Matthews y Alder 1977, McClintock *et al.* 1982). Sin embargo, otro macho puede extraer el tapón de la vagina inseminada al realizar de 3-4 intromisiones (Lucio *et al.* 1994), si lo retira en un periodo menor a 5 min impide y/o disminuye el transporte espermático del primer macho (Adler y Zolot 1970). Una vez retirado el tapón seminal, el segundo macho expelerá su semen, promoviendo de esta manera la competencia espermática (Lucio y Gutiérrez-Ospina 2006, Birkhead y Moller 1998, Gomendio 2002).

## **1.7 Fenotipos copulatorios en la rata**

En estudios recientes se ha mostrado que las ratas macho presentan variabilidad en la conducta copulatoria. Se encontró que la población de ratas Wistar (n=546) sigue una distribución Gaussiana donde aproximadamente el 10% de los machos son eyaculadores rápidos, el 80% normales y el otro 10% lentos. Esta clasificación se determinó de acuerdo con el número de eyaculaciones, por prueba, durante cuatro pruebas copulatorias de 30 minutos cada una. Se encontró que los eyaculadores rápidos ejecutan de 4-5 eyaculaciones en 30 minutos, los

normales de 2-3 y los lentos de 0-1. Por ello, se sugiere que los machos presentan uno de tres fenotipos copulatorios: **rápido, normal o lento** (Pattij *et al.*, 2005). Además, se encontraron diferencias en otros parámetros copulatorios como la latencia de eyaculación y el número de montas (Waldinger y Olivier 2005). Los machos de fenotipo rápido eyaculan en promedio a los  $247 \pm 45$  s y realizaron  $8.2 \pm 1.8$  montas, los de fenotipo normal a los  $717 \pm 133$  s y realizan  $23 \pm 4$  montas y finalmente, los de fenotipo lento eyaculan a los  $1697 \pm 80$  s y ejecutan  $42 \pm 4$  montas (Pattij *et al.*, 2005).

## 2. JUSTIFICACIÓN

Los diferentes modelos teóricos de competencia espermática no consideran los efectos de ésta sobre el desempeño de la conducta copulatoria ni sobre otras características del eyaculado más allá del número espermático. Además, consideran que los machos siempre se comportan de la misma forma bajo determinadas condiciones, lo cual no sucede en la naturaleza, debido a que los machos presentan diferentes fenotipos copulatorios. Hasta la fecha no existen estudios que integren el efecto de la competencia espermática sobre la conducta copulatoria y parámetros del eyaculado, menos aún, consideran los diferentes fenotipos copulatorios.

Para empezar a dilucidar lo anterior, elegimos a la rata de laboratorio porque: a) es una especie gregaria y promiscua, que constantemente está en riesgo de competencia espermática; b) su conducta copulatoria, además de ser de las más ampliamente estudiadas, se registra fácilmente; c) su tapón seminal y semen pueden obtenerse de las hembras recién apareadas y analizarse macroscópica y microscópicamente y d) porque se ha mostrado la presencia de tres fenotipos copulatorios en la población de ratas.

Analizamos la conducta copulatoria y el eyaculado de ratas en dos contextos (sin y con enfrentamiento copulatorio). El contexto con enfrentamiento sirvió para evaluar los efectos de la competencia espermática sobre los parámetros conductuales y del eyaculado. Además de correlacionar los parámetros copulatorios con los parámetros del eyaculado. El contexto sin enfrentamiento se consideró el grupo control.

### 3. HIPÓTESIS

El enfrentamiento entre ratas macho afectará no sólo el número espermático sino también otros parámetros del eyaculado y copulatorios, mismos que dependen de los fenotipos copulatorios masculinos.

#### **Predicciones**

En el enfrentamiento entre machos de fenotipo copulatorio rápido ganarán aquellos que disminuyen los valores de sus parámetros copulatorios e incrementan los del eyaculado.

En el enfrentamiento entre machos de fenotipo copulatorio normal ganarán aquellos que disminuyen los valores de los parámetros copulatorios e incrementan los del eyaculado.

En el enfrentamiento entre machos de fenotipo copulatorio rápido contra los de fenotipo copulatorio normal siempre ganarán aquellos de fenotipo rápido, mantendrán los valores de los parámetros copulatorios e incrementarán los del eyaculado.

---

*Nota: Macho ganador es el que eyacula primero durante el enfrentamiento copulatorio*

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Determinar el efecto del enfrentamiento entre ratas macho sobre los parámetros copulatorios y del eyaculado considerando diferentes fenotipos copulatorios.

### **4.2 Objetivos específicos**

1) Analizar los parámetros copulatorios (número de montas e intromisiones, intervalo interintromisión y latencias de monta, intromisión y eyaculación) y del eyaculado (cuenta, movilidad, viabilidad y morfología espermáticas; color y viscosidad del fluido seminal; peso, largo, ancho y volumen del tapón seminal) de ratas macho sin y con enfrentamiento copulatorio considerando sólo a los ganadores de los distintos fenotipos copulatorios (rápido y normal).

2) Correlacionar los parámetros copulatorios (número de intromisiones, intervalo interintromisión y latencia de eyaculación) con parámetros del eyaculado (cuenta y movilidad espermática, peso, largo, ancho y volumen del tapón seminal) de ratas macho sin y con enfrentamiento copulatorio considerando los diferentes fenotipos copulatorios.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar maduras sexualmente (3 meses de edad). Machos con experiencia sexual (300 g) y hembras ovariectomizadas (250 g) a las que se les indujo hormonalmente el estro mediante inyecciones subcutáneas de estradiol (10 µg; Sigma-Aldrich; 48 horas antes de la prueba copulatoria) y progesterona (2 mg; Sigma-Aldrich; 4 horas antes de la prueba copulatoria). Los animales fueron mantenidos en el bioterio a  $22 \pm 1$  °C de temperatura ambiental y con ciclo de luz-oscuridad invertido (12 hrs luz/12 hrs oscuridad). Los machos fueron alojados en jaulas individuales; las hembras en grupos de 5 por jaula colectiva. Se les proporcionó agua y alimento, Purina Chow, *ad libitum*. Los animales fueron manipulados según los lineamientos del comité de ética local.

### 5.2 Análisis de la cópula

La conducta copulatoria se evaluó utilizando un redondel de observación transparente de acrílico donde se introdujo al (los) macho (s) y después de 5 min de habituación a una hembra con estro inducido. Se observaron los patrones motores copulatorios y se registraron, con un cronómetro, los parámetros copulatorios de una serie eyaculatoria. Los encuentros copulatorios se realizaron con intervalos no menores a dos días ni mayores a siete días.

#### 5.2.1 Parámetros copulatorios

**Latencia de monta:** Intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce a la hembra con el macho en la arena de observación hasta que se presenta la primera monta.

**Latencia de intromisión:** Intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce a la hembra con el macho en la arena de observación hasta que se presenta la primera intromisión.

**Latencia de eyaculación:** Intervalo de tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación.

**Número de montas:** Número de veces que se presenta este patrón por serie eyaculatoria.

**Número de intromisiones:** Número de veces que se presenta este patrón por serie eyaculatoria.

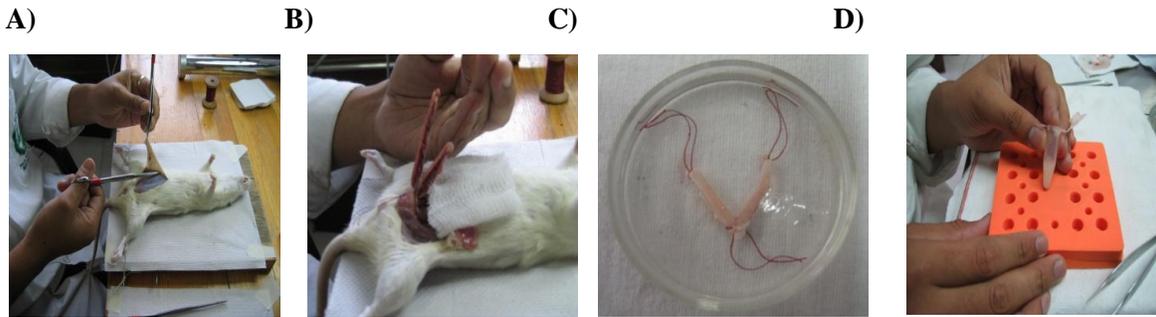
Las latencias se registran en minutos y segundos con un cronómetro y se anotan en una hoja de registro.

### **5.3 Análisis del eyaculado**

El eyaculado se obtuvo de la hembra recién inseminada, el fluido contenido en los cuernos uterinos “semen” y el tapón seminal de la vagina.

#### **5.3.1 Obtención del fluido contenido en los cuernos uterinos “semen”**

Una vez observado el patrón motor de eyaculación, la hembra se retiró del redondel de observación y se esperó por 5 minutos para que ocurriera el transporte espermático. Después de este tiempo la hembra fue anestesiada con pentobarbital sódico (26 mg/kg de peso) por vía intraperitoneal. Posteriormente, fue colocada en posición supina sobre una mesa de cirugía y se realizó una incisión en la línea media de la pared abdominal (**Fig. 4A**). Se localizaron, ligaron y extrajeron los cuernos uterinos (**Fig. 4B**). Éstos se colocaron en una caja Petri (con solución salina al 0.9% y a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y se les retiró el tejido graso y vasos sanguíneos adyacentes (**Fig. 4C**). Se realizó una incisión en el extremo distal de cada cuerno uterino y el semen se vació en un tubo para microcentrífuga (**Fig. 4D**). Desde entonces, el semen se mantuvo en un termobañó a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Inmediatamente se evaluaron los parámetros del eyaculado. Para el análisis del tapón copulatorio, se continuó la incisión abdominal hasta la piel perineal y se separó la sínfisis púbica. Se observó el conducto vaginal completo y sobre su pared dorsal se realizó una incisión. El tapón seminal ahí adherido se desprendió de la pared vaginal interna con una espátula. Posteriormente, se evaluaron sus respectivos parámetros.



**Fig. 4** Metodología para la obtención del fluido contenido en los cuernos uterinos “semen”. **A)** La rata hembra se coloca en posición supina, se hace una incisión sobre la línea media y se corta la piel y el músculo. **B)** Posteriormente, se localizan, ligan y extraen los cuernos uterinos. **C)** Éstos se limpian, es decir, se les retira el exceso de grasa y vasos sanguíneos. **D)** Finalmente, se cortan los extremos de los cuernos uterinos y su contenido se vierte en un tubo para microcentrífuga.

### 5.3.2 Parámetros del fluido contenido en los cuernos uterinos “semen”

#### 5.3.2.1 Parámetros macroscópicos cualitativos

**Color:** Es la tonalidad del fluido seminal.

**Viscosidad:** Es la consistencia del fluido seminal.

#### 5.3.2.2 Procedimiento para la evaluación de los parámetros macroscópicos

El color se estableció mediante observación directa. El color normal del semen es blanquecino.

La viscosidad se determinó al medir la longitud del filamento que se forma al liberar una alícuota de semen (10  $\mu$ l) desde una pipeta de transferencia hacia un tubo de microcentrífuga. La longitud del filamento de semen se midió con un vernier digital y se expresó en milímetros. A mayor longitud del filamento, mayor viscosidad.

#### 5.3.2.3 Parámetros microscópicos

**Movilidad espermática:** Es el movimiento individual de los espermatozoides y se distinguen 3 tipos: a) movilidad progresiva, b) movilidad *in situ* y d) inmovilidad. Se expresa en porcentaje (%).

**Cuenta espermática:** Se refiere a la estimación del número de espermatozoides contenidos en el semen. Se expresa en millones ( $1 \times 10^6$ ).

**Viabilidad espermática:** Es la estimación del número de espermatozoides vivos contenidos en la muestra de semen. Se expresa en porcentaje (%).

**Morfología espermática:** Es la estimación del número de espermatozoides que presentan morfología normal (cabeza en forma de hoz y flagelo largo que termina en punta). Se expresa en porcentaje de espermatozoides normales y anormales (%).

#### 5.3.2.4 Procedimiento para la evaluación de los parámetros

La movilidad espermática se evaluó en una alícuota de 10  $\mu$ l de semen, la cual se colocó en un portaobjetos, después se colocó un cubreobjetos sobre la muestra y se observó en el microscopio óptico con el objetivo 20x. El movimiento espermático se determinó al trazar una línea horizontal imaginaria en el campo de observación. Se evaluaron 100 espermatozoides con un contador digital, distinguiendo el tipo de movimiento de cada uno de ellos.

La cuenta espermática se determinó al obtener primero la densidad espermática, para ello, se tomaron 10  $\mu$ l de semen y se colocaron en un portaobjetos, se colocó un cubreobjetos y se analizaron tres campos en el microscopio óptico con el objetivo 20x. Se trazaron cinco líneas imaginarias en zig-zag en el campo de observación y se contaron todos los espermatozoides que tocaran con la cabeza o el flagelo las líneas imaginarias. Se obtuvo el promedio de los tres campos y se determinó la dilución correspondiente (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Dilución del semen correspondiente con la densidad espermática.

Densidad espermática	Dilución del semen (semen: diluyente)
Mayor de 200	1:400
121-200	1:300
61-120	1:200
10-60	1:100

Una vez realizada la dilución, se colocaron 10 µl en la cámara de Neubauer, se dejaron transcurrir de 8-10 min y se observó en el microscopio con el objetivo de 20x para obtener el conteo espermático. Se contaron las cabezas de espermatozoides en sólo 5 cuadrantes de cada cuadrícula de la cámara, se sumaron y se promediaron las dos cuadrículas de la cámara de Neubauer.

La viabilidad espermática se evaluó al colocar una alícuota de 10 µl en un portaobjetos, se agregaron 10 µl de colorante (eosina-nigrosina). La mezcla se homogenizó con un palillo de madera, se le colocó un cubreobjetos y se dejaron transcurrir 5 min antes de su evaluación. Se contaron 100 espermatozoides al azar en diferentes campos con un contador digital. Los espermatozoides teñidos fueron considerados muertos y los no teñidos, vivos. Fueron evaluados con el objetivo de 100x.

La morfología fue evaluada con la misma muestra realizada para la viabilidad, para ello, se contaron 100 espermatozoides distinguiendo aquellos normales de los anormales. Fueron evaluados con el objetivo de 100x.

### 5.3.3 Parámetros del tapón seminal

#### 5.3.3.1 Parámetros microscópicos

**Peso:** Es la masa del tapón seminal y se expresa en miligramos (mg).

**Tamaño (largo y ancho):** Es la medida del largo y ancho del tapón seminal. Se expresa en milímetros (mm).

**Volumen:** Es la medida del espacio que ocupa el tapón seminal y se expresa en milímetros cúbicos (mm<sup>3</sup>). Se obtiene con la siguiente fórmula:  $V = (l) (\pi) (r^2)/3$ .

Donde: V=volumen; l=largo;  $\pi=3.1416$ ;  $r^2$ =radio (mitad del ancho del tapón) elevado al cuadrado.

Los parámetros del eyaculado fueron evaluados usando la metodología de rutina que se realiza en nuestro laboratorio (Lucio y Tlachi 2008).

## 5.4 Prueba estadística

Las comparaciones de los parámetros copulatorios entre el contexto sin y con enfrentamiento copulatorio dependiendo del fenotipo copulatorio (rápidos *vs* rápidos, rápidos *vs* normales, normales *vs* normales) se realizaron con la prueba estadística de “U” de Mann Whitney mediante el programa estadístico Sigma Plot (Versión 11.0). Los parámetros del eyaculado entre ambos contextos se analizaron con la misma prueba.

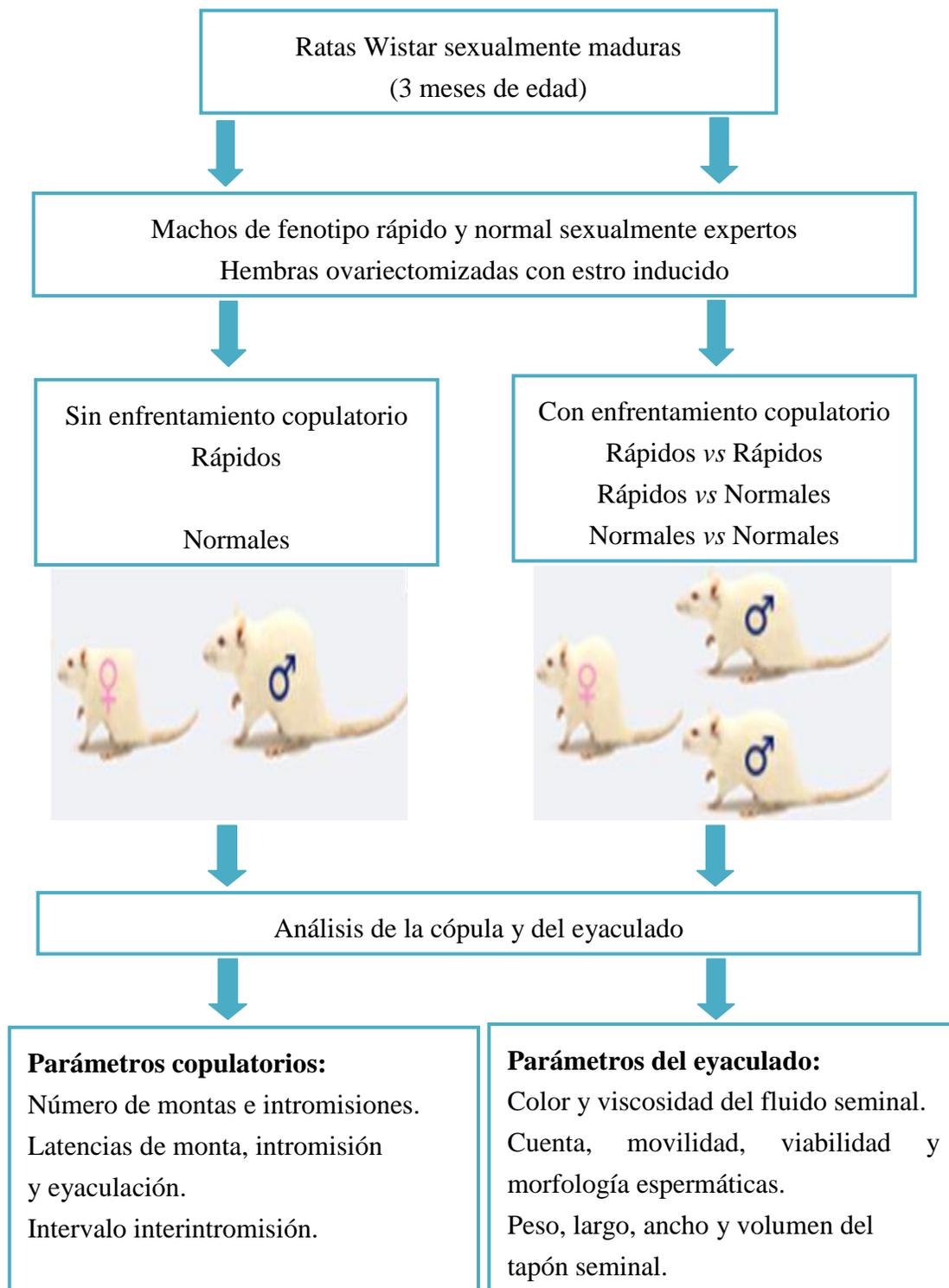
La prueba estadística de Friedman se utilizó para comparar las latencias de eyaculación en las cuatro últimas pruebas de entrenamiento copulatorio para clasificar a los fenotipos copulatorios.

Las correlaciones de los parámetros copulatorios con los del eyaculado se realizaron mediante Correlación de Pearson. Se utilizó el programa estadístico Sigma Plot.

Los valores de los parámetros copulatorios y del eyaculado fueron significativos con un valor de  $p \leq 0.05$ .

## 6. DISEÑO EXPERIMENTAL

En los contextos copulatorios se utilizaron machos sexualmente expertos clasificados en fenotipos copulatorios (rápido y normal) según su latencia de eyaculación durante 4-6 pruebas de entrenamiento. En el contexto sin enfrentamiento copulatorio, los machos de diferente fenotipo (rápidos, n=8 y normales, n=9) fueron sometidos a una prueba copulatoria que terminó cuando eyaculó el macho. En el contexto con enfrentamiento copulatorio cada macho fue colocado con otro del mismo o de diferente fenotipo copulatorio. Los enfrentamientos según el fenotipo copulatorio fueron: rápidos *vs* rápidos (n=8), rápidos *vs* normales (n=8) y normales *vs* normales (n=9). Las pruebas terminaron cuando alguno de los dos machos eyaculó. En cada contexto copulatorio se analizaron la cópula y el eyaculado con sus respectivos parámetros. El eyaculado se obtuvo de la hembra recién inseminada en cada contexto copulatorio (**Fig. 5**).



**Fig. 5** Diseño experimental donde se muestran los fenotipos copulatorios (rápido y normal) sin enfrentamiento copulatorio y los posibles enfrentamientos entre fenotipos. En cada contexto se evaluó la cópula y el eyaculado con sus respectivos parámetros.

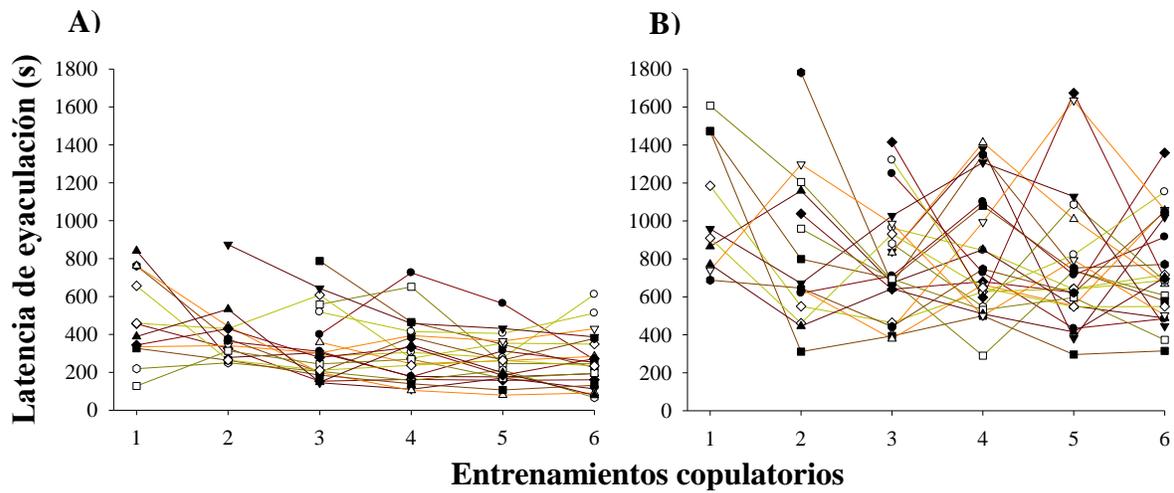
## 7. RESULTADOS

### 7.1 Fenotipos copulatorios encontrados en la población de ratas

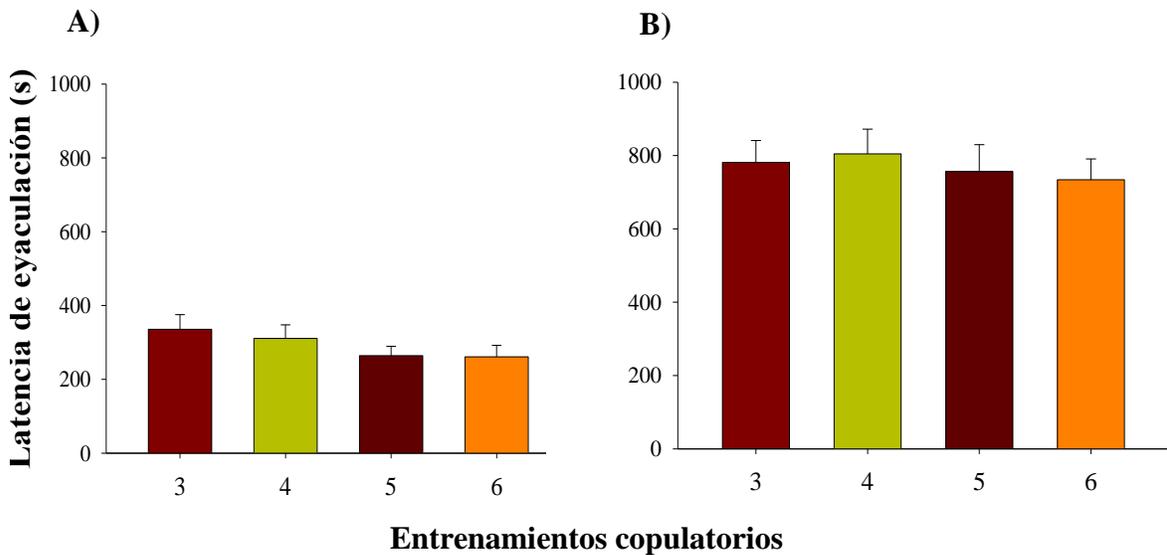
La población de estudio constó de 78 machos, de los cuales 17 no realizaron actividad copulatoria, es decir fueron machos no-copuladores. El resto de los machos, 61 fueron copuladores, 27 de ellos mostraron fenotipo copulatorio rápido y 34 el fenotipo normal. Dado que los machos fueron sometidos a enfrentamientos copulatorios, resultando un ganador y un perdedor, los datos de los machos perdedores no se incluyeron en el análisis estadístico. Los ganadores fueron los machos que eyacularon en el enfrentamiento, de modo que su eyaculado pudo evaluarse; los perdedores no eyacularon. Así entonces, los resultados que se muestran corresponden a 21 machos rápidos y 23 machos normales (n=44), los otros 6 rápidos y 11 normales fueron omitidos porque fueron los rivales perdedores.

A todos los machos se les dio la oportunidad de realizar 6 pruebas de entrenamiento copulatorio. Aquellos cuya latencia de eyaculación fue en promedio de  $292.80 \pm 33.37$  s se denominaron de fenotipo rápido (**Fig. 6A**), y los de latencia de eyaculación que en promedio fue de  $768.92 \pm 64.47$  s, fueron considerados de fenotipo normal (**Fig. 6B**).

Los machos de fenotipo rápido (n=21) no mostraron diferencia significativa en los promedios de sus latencias de eyaculación durante los cuatro últimos entrenamientos ( $335.33 \pm 40.5$ ,  $311.0 \pm 36.61$ ,  $264.0 \pm 25.55$  y  $260.9 \pm 31.30$  s, **Fig. 7A**). Lo mismo sucedió con los promedios de machos de fenotipo normal (n=23,  $781.0 \pm 60.06$ ,  $804.56 \pm 67.57$ ,  $756.26 \pm 73.33$  y  $733.87 \pm 56.93$  s, **Fig. 7B**).



**Fig. 6** Fenotipos copulatorios en la población de ratas macho durante los entrenamientos copulatorios. **A)** Los machos de **fenotipo rápido** mostraron menor variación en sus latencias de eyacuación. **B)** Los machos de **fenotipo normal** presentaron mayor variación en su latencia de eyacuación. Se observó que en las primeras dos pruebas de entrenamiento no todos los machos eyacularon y esto sucedió en los machos de cualquiera de los dos fenotipos.

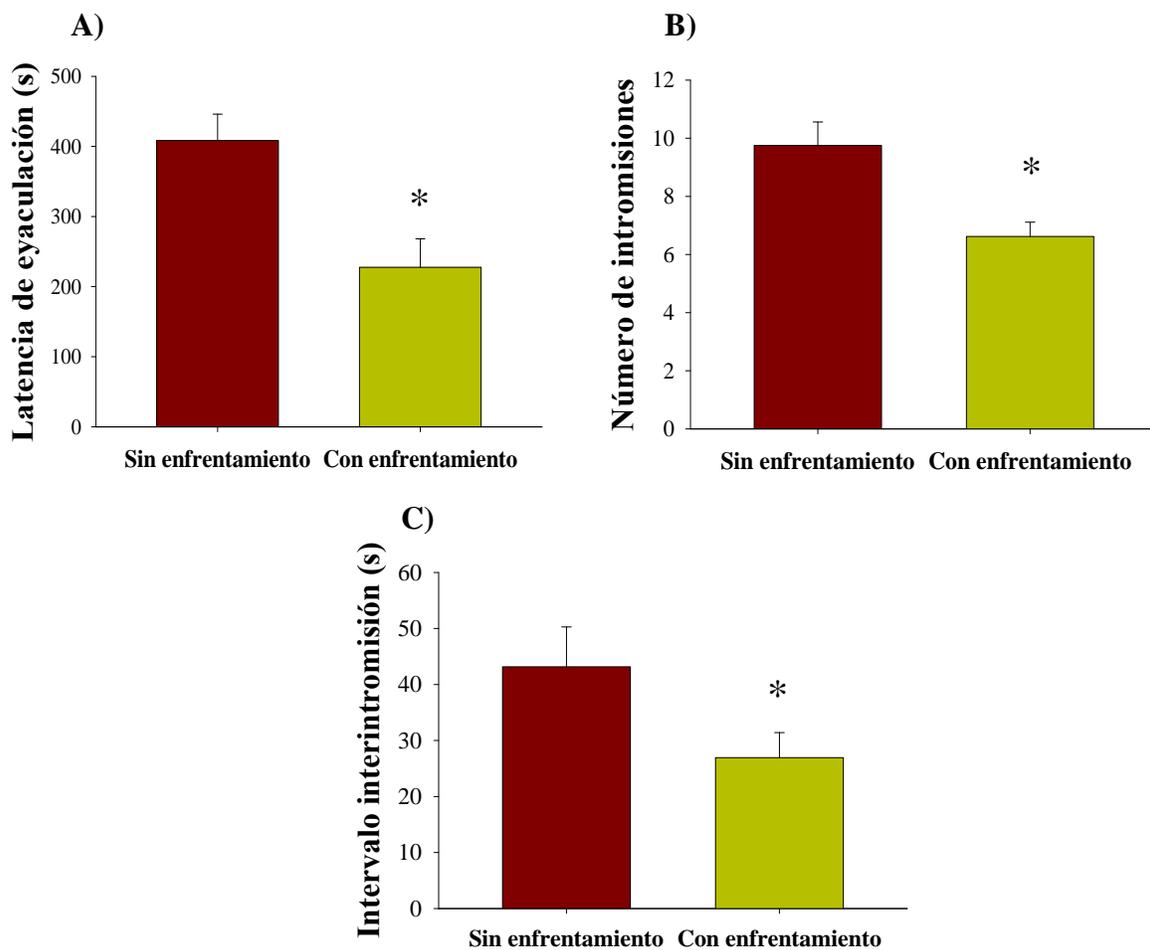


**Fig. 7** Fenotipos copulatorios en la población de ratas macho durante los últimos cuatro entrenamientos copulatorios. **A)** Los machos de **fenotipo rápido** mantuvieron su fenotipo copulatorio durante los entrenamientos debido a que no se encontraron diferencias significativas en el promedio de las latencias de eyacuación durante los cuatro últimos entrenamientos copulatorios ( $\chi^2=5.62$ ,  $p=0.13$ , Friedman). **B)** Los machos de **fenotipo normal** también conservaron el promedio de su latencia de eyacuación durante los últimos cuatro entrenamientos ( $\chi^2=1.38$ ,  $p=0.71$ , Friedman).

## 7.2 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Rápidos

### 7.2.1 Parámetros copulatorios

Observamos que los machos de **fenotipo rápido** al **enfrentarse** con otros de **su mismo fenotipo** disminuyeron significativamente su: a) latencia de eyaculación ( $171.5 \pm 25.24$  s), b) número de intromisiones ( $6.62 \pm 0.49$ ) y c) el intervalo inter-intromisión ( $26.94 \pm 4.47$  s) comparados con los machos de su mismo fenotipo en el contexto sin enfrentamiento copulatorio ( $n=8$ ;  $389.12 \pm 36.94$  s,  $9.75 \pm 0.81$  y  $43.15 \pm 7.12$  s, respectivamente, **Fig. 8**).



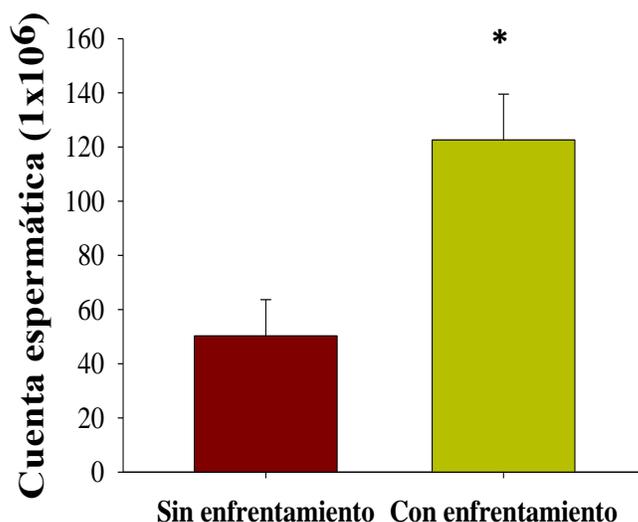
**Fig. 8** Parámetros copulatorios de machos de **fenotipo rápido** en dos contextos copulatorios: sin y con enfrentamiento. **A)** Los machos rápidos disminuyeron significativamente la latencia de eyaculación ( $U=3$ ,  $p=0.001$ , Mann-Whitney). **B)** El número de intromisiones y **C)** el intervalo inter-intromisión también disminuyeron significativamente ( $U=7$ ,  $p=0.07$  y  $U=13$ ,  $p=0.05$ , Mann-Whitney, respectivamente).

### 7.2.2 Parámetros del eyaculado

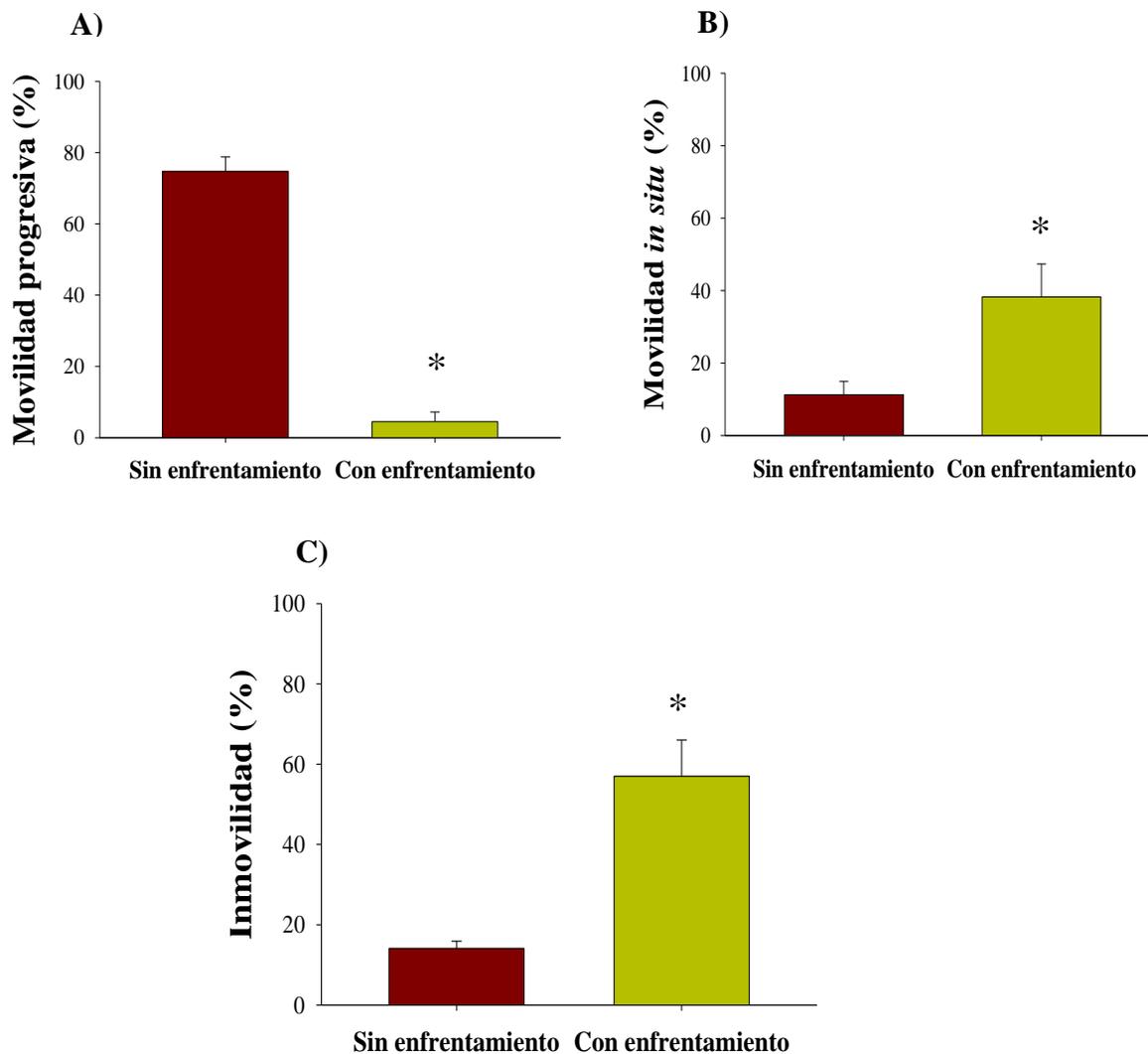
Al evaluar los parámetros macroscópicos cualitativos del eyaculado de machos de fenotipo rápido, se observó que el enfrentamiento incrementó el porcentaje de machos cuyo fluido seminal mostró aumento en la viscosidad del fluido seminal (75%, 6 de 8 machos) comparado con el contexto sin enfrentamiento (25%, 2 de 8 machos). No se encontraron diferencias en el color del fluido seminal, ya que en todas las muestras fue normal (blanquecino).

Al comparar los resultados de los eyaculados de los machos rápidos con y sin enfrentamiento observamos que la cuenta espermática se incrementó debido al enfrentamiento ( $122.62 \times 10^6$  versus  $50.27 \times 10^6$ ; **Fig. 9**).

La movilidad espermática progresiva fue prácticamente abolida (4.5%), la *in situ* incrementó (38.25%) y la inmovilidad también incrementó (57%) durante los enfrentamientos entre machos rápidos comparadas con los machos del mismo fenotipo sin enfrentamiento copulatorio (74.75%, 11.25%, 14.12%, respectivamente, **Fig. 10**).



**Fig. 9** Cuenta espermática de los machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios: sin y con enfrentamiento. Se observó que, los machos rápidos, al enfrentarse con machos de su mismo fenotipo incrementaron significativamente la cuenta espermática en comparación con la obtenida por los machos sin enfrentamiento copulatorio sin enfrentamiento ( $U=9$ ,  $p=0.015$ , Mann-Whitney).



**Fig. 10** Movilidad espermática durante el enfrentamiento copulatorio entre machos rápidos. **A)** Los machos de fenotipo rápido al enfrentarse con otros del mismo fenotipo disminuyeron significativamente la movilidad espermática progresiva en comparación con los machos sin enfrentamiento copulatorio ( $U=0$ ,  $p=0.01$ , Mann-Whitney). **B)** La movilidad *in situ* incrementó significativamente en los machos con enfrentamiento respecto a aquellos sin enfrentamiento ( $U=7.5$ ,  $p=0.007$ , Mann-Whitney). **C)** Asimismo, la inmovilidad espermática también incrementó ( $U=7$ ,  $p=0.007$ , Mann-Whitney).

No se observaron diferencias significativas en la viabilidad y morfología espermáticas, ni en los parámetros del tapón seminal, entre los dos contextos copulatorios (**Tablas 2 y 3**, respectivamente).

**Tabla 2.** Viabilidad y morfología espermáticas de machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios.

<b>Enfrentamiento</b>	<b>Viabilidad (% de spz)</b>	<b>Morfología (% de spz)</b>
<b>Sin</b>	80.50 ± 3.10	91.62 ± 2.07
<b>Con</b>	82.62 ± 3.64	95.50 ± 1.59

*spz=espermatozoides*

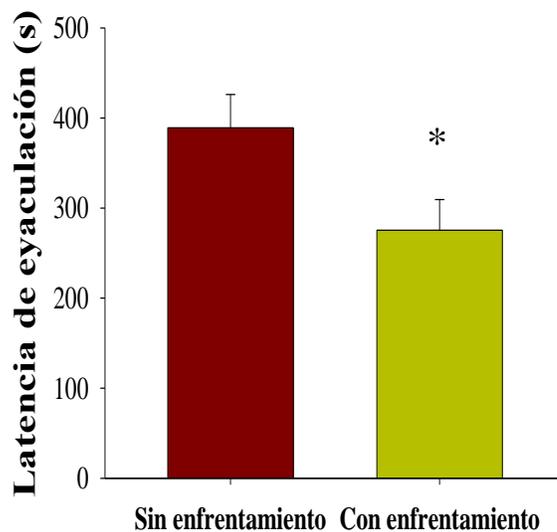
**Tabla 3.** Parámetros del tapón seminal de machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios.

<b>Enfrentamiento</b>	<b>Parámetros macroscópicos del tapón seminal</b>			
	<b>Peso (mg)</b>	<b>Largo (mm)</b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Volumen (mm<sup>3</sup>)</b>
<b>Sin</b>	108.17 ± 7.20	10.07 ± 0.44	5.43 ± 0.20	70.24 ± 12.0
<b>Con</b>	111.31 ± 6.94	10.56 ± 0.73	6.23 ± 0.58	93.91 ± 5.88

### 7.3 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Normales

#### 7.3.1 Parámetros copulatorios

Obtuvimos que cuando machos de **fenotipo rápido** se enfrentaron con machos de **fenotipo normal**, siempre eyacularon primero los rápidos. Además, los machos de fenotipo rápido, disminuyeron la latencia de eyaculación ( $275.37 \pm 34.04$  s) comparados con el grupo control (sin enfrentamiento,  $389.12 \pm 36.94$  s, **Fig. 11**).



**Fig. 11** Parámetros copulatorios de machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios. Los machos de **fenotipo rápido** al enfrentarse con otro de fenotipo normal, disminuyeron significativamente su latencia de eyaculación en comparación con la obtenida por los machos del mismo fenotipo sin enfrentamiento copulatorio (U=10, p=0.02, Mann-Whitney).

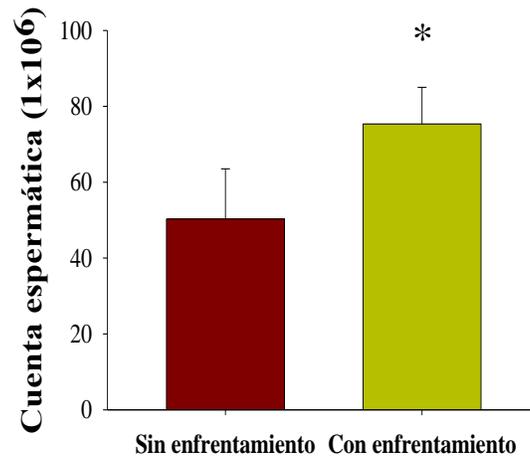
### 7.3.2 Parámetros del eyaculado

Se observó que durante el enfrentamiento entre machos rápidos contra normales, en el cual ganan los rápidos, el 50% de ellos (4 de 8) presentaron viscosidad del fluido seminal aumentada, en el 25% fue baja y en el 25% restante fue normal. En cambio, en el grupo de machos rápidos sin enfrentamiento sólo el 25% presentó viscosidad aumentada (2 de 8 animales).

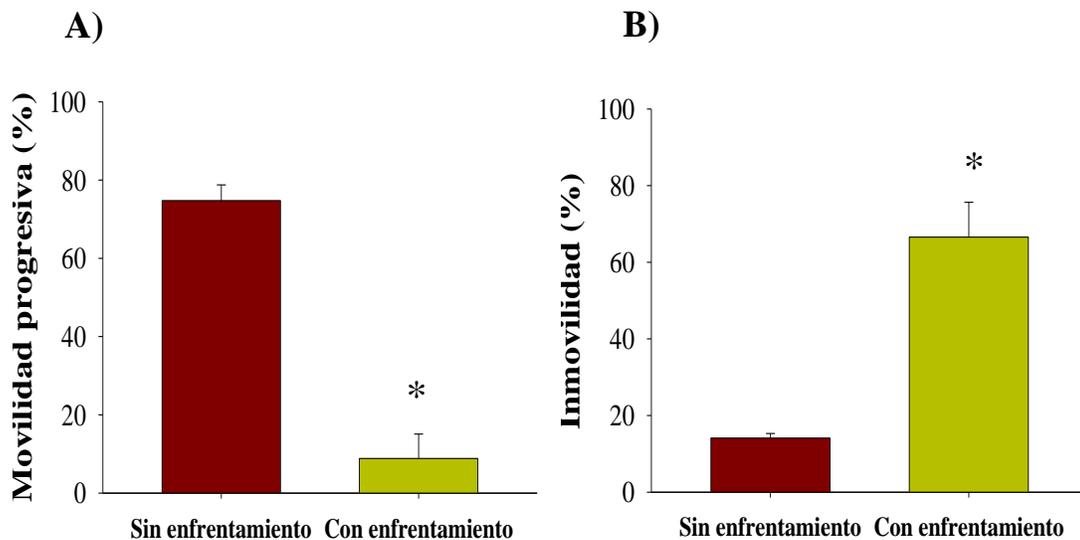
El color del fluido seminal fue normal (blanquecino) en todos los machos de fenotipo rápido sin enfrentamiento (8 de 8). De estos machos, uno presentó color transparente, lo que significa ausencia de espermatozoides en el fluido seminal, sin embargo, sí se formó el tapón seminal.

En el contexto con enfrentamiento se observó que la cuenta espermática incrementó significativamente *versus* el grupo sin enfrentamiento ( $75.35 \times 10^6$  y  $50.27 \times 10^6$ , respectivamente, **Fig. 12**). La movilidad espermática progresiva disminuyó en el

enfrentamiento entre machos rápidos vs normales respecto al grupo sin enfrentamiento (8.85% y 74.75%, respectivamente), mientras que la inmovilidad incrementó (66.57% y 14.12%, sin y con enfrentamiento respectivamente, **Fig. 13**).



**Fig. 12** Los machos de fenotipo rápido al enfrentarse con otros de fenotipo normal incrementaron significativamente la cuenta espermática en comparación con la obtenida en los machos sin enfrentamiento copulatorio ( $U=11$ ,  $p=0.05$ , Mann-Whitney).



**Fig. 13** Movilidad espermática durante el enfrentamiento copulatorio entre machos rápidos contra normales. **A)** Los machos de fenotipo rápido disminuyeron significativamente la movilidad espermática progresiva en comparación con los machos rápidos sin enfrentamiento copulatorio ( $U=0$ ,  $p=0.001$ , Mann-Whitney,  $n=8$ ). **B)** La inmovilidad espermática incrementa en el enfrentamiento *versus* el grupo control ( $U=0$ ,  $p=0.001$ , Mann-Whitney).

No se encontraron diferencias significativas en la viabilidad y morfología espermáticas, ni en los parámetros del tapón seminal, entre los dos contextos copulatorios (**Tablas 4 y 5**, respectivamente).

**Tabla 4.** Viabilidad y morfología espermáticas de machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios.

<b>Enfrentamiento</b>	<b>Viabilidad (% de spz)</b>	<b>Morfología (&amp; de spz)</b>
<b>Sin</b>	80.50 ± 3.10	91.62 ± 2.07
<b>Con</b>	73.28 ± 4.91	95.71 ± 0.99

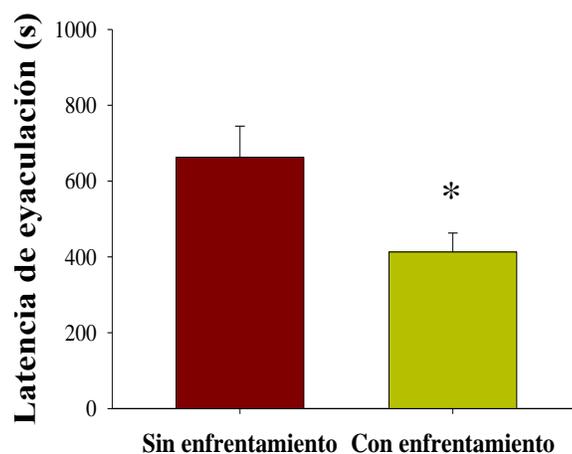
**Tabla 5.** Parámetros del tapón seminal de machos de fenotipo rápido en dos contextos copulatorios.

<b>Enfrentamiento</b>	<b>Parámetros macroscópicos del tapón seminal</b>			
	<b>Peso (mg)</b>	<b>Largo (mm)</b>	<b>Ancho (mm)</b>	<b>Volumen (mm<sup>3</sup>)</b>
<b>Sin</b>	108.17 ± 7.20	10.07 ± 0.44	5.43 ± 0.20	70.24 ± 12.0
<b>Con</b>	103.55 ± 7.16	10.50 ± 0.43	6.45 ± 0.16	88.43 ± 5.30

## 7.4 Enfrentamiento copulatorio entre machos Normales vs Normales

### 7.4.1 Parámetros copulatorios

Cuando machos de **fenotipo normal** se **enfrentaron** contra machos de **su mismo fenotipo** se observó que los machos que eyacularon primero disminuyeron significativamente su latencia de eyaculación ( $413.2 \pm 49.92$  s, n=9) respecto a los machos del mismo fenotipo del contexto sin enfrentamiento ( $662.81 \pm 82.27$  s, n=8, **Fig. 14**)



**Fig. 14** Fenotipo copulatorio normal en dos contextos copulatorios. Los machos de fenotipo normal al enfrentarse con otros de su mismo fenotipo disminuyeron su latencia de eyaculación respecto a los machos normales sin enfrentamiento copulatorio ( $U=21$ ,  $p=0.05$ , Mann-Whitney).

#### 7.4.2 Parámetros del eyaculado

Se observaron variaciones en la viscosidad y el color del fluido seminal en machos de fenotipo normal en ambos contextos.

De los machos de fenotipo normal con enfrentamiento, 30% (3 de 10) presentó viscosidad normal, otro 30% mostró viscosidad disminuida y el 40% restante (4 de 10) tuvo viscosidad aumentada. Mientras que en machos normales sin enfrentamiento copulatorio el 62.5% de los animales (5 de 8) presentó viscosidad normal, 12.5% (1 de 8) tuvo viscosidad disminuida y el 25% (2 de 8) presentó viscosidad aumentada.

Respecto al color del fluido seminal, durante el enfrentamiento, el 70 % de los machos normales (7 de 10) presentó color blanquecino y el 20 % (2 de 10) mostró color poco-blanquecino. En el 10% restante que corresponde a 1 macho fue transparente. En éste caso, al igual que sucedió en el enfrentamiento entre machos rápidos vs normales, no se encontraron espermatozoides en el fluido seminal aunque sí tapón seminal. En el contexto sin enfrentamiento, el 88.9% de los machos normales (8 de 9) presentó color normal y en 1 macho que corresponde al 11.1% el color fue transparente. Este macho sólo realizó el patrón motor e eyaculación pero no expulsó espermatozoides ni secreciones de las glándulas sexuales accesorias, ya que no se formó el tapón seminal.

No se encontraron diferencias significativas entre la cuenta y movilidad espermáticas en ambos contextos copulatorios en los machos normales. Tampoco en la viabilidad y morfología espermáticas ni en los parámetros del tapón seminal (**Tablas 6 y 7**, respectivamente).

**Tabla 6.** Viabilidad y morfología espermáticas de machos de fenotipo normal en dos contextos copulatorios.

Enfrentamiento	Viabilidad	Morfología
	(% de spz)	(% de spz)
<b>Sin</b>	82.12 ± 1.94	93.12 ± 1.31
<b>Con</b>	81.12 ± 2.46	87.75 ± 2.28

**Tabla 7.** Parámetros del tapón seminal de machos de fenotipo normal en dos contextos copulatorios.

Enfrentamiento	Parámetros macroscópicos del tapón seminal			
	Peso (mg)	Largo (mm)	Ancho (mm)	Volumen (mm <sup>3</sup> )
<b>Sin</b>	105.05 ± 6.24	9.33 ± 0.54	5.61 ± 0.30	77.20 ± 87.21
<b>Con</b>	96.22 ± 10.63	10.67 ± 0.28	5.45 ± 0.12	83.55 ± 4.63

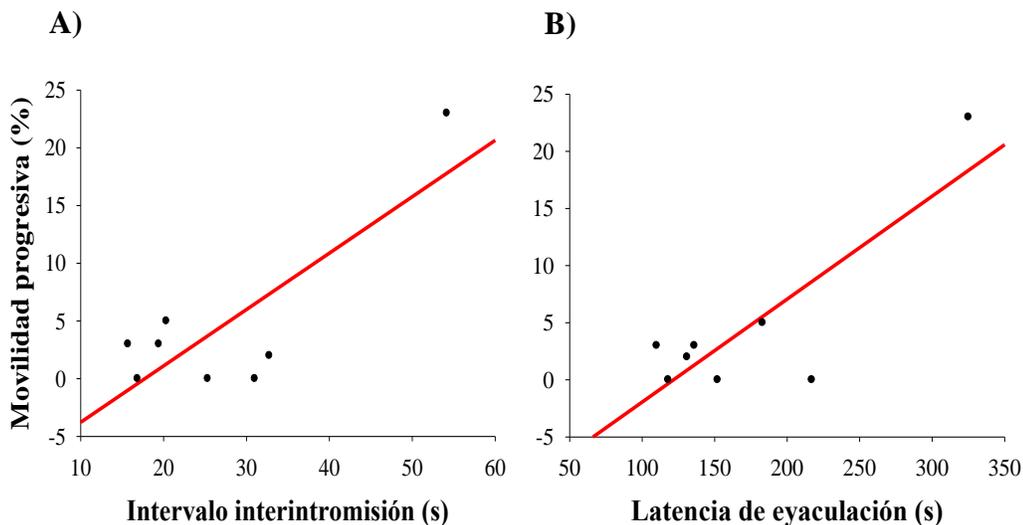
## 7.5 Correlaciones entre parámetros copulatorios y del eyaculado

### 7.5.1 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Rápidos

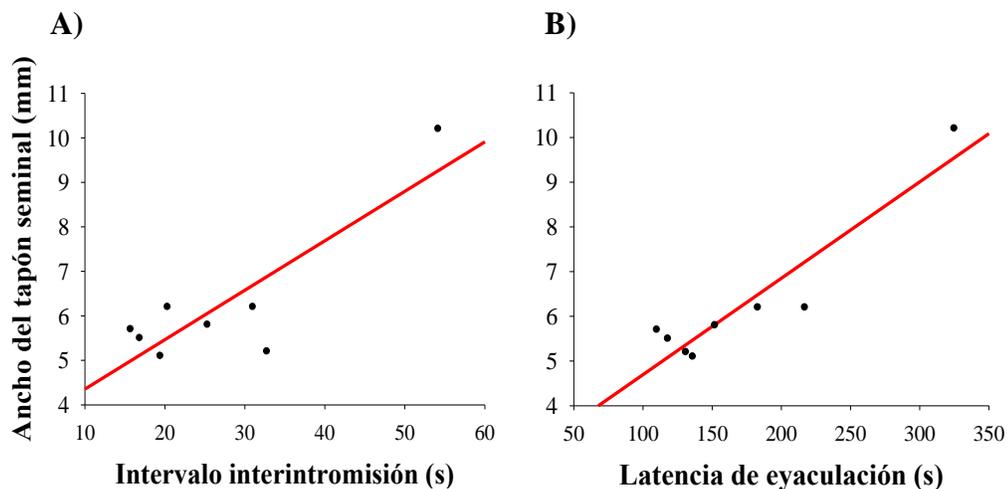
No se observó correlación entre ningún parámetro copulatorio con los del eyaculado durante el contexto sin enfrentamiento en los machos de fenotipo rápido.

Cuando se enfrentaron machos de fenotipo rápido (n=8), se encontró correlación positiva entre el intervalo inter-intromisión ( $r=0.80$ ,  $p=0.016$ ) y la latencia de eyaculación

( $r=0.71$ ,  $p=0.04$ ) con la movilidad espermática progresiva (**Fig. 15**). También se encontró correlación positiva entre el intervalo inter-intromisión ( $r=0.81$ ,  $p=0.014$ ) y la latencia de eyaculación ( $r=0.93$ ,  $p=0.0007$ ) con el ancho del tapón seminal (**Fig. 16**).



**Fig. 15** Correlaciones de Pearson entre parámetros copulatorios y del eyaculado en el enfrentamiento entre machos de fenotipo rápido. **A)** Se encontró correlación positiva entre la movilidad espermática progresiva con el intervalo inter-intromisión y **B)** la latencia de eyaculación.



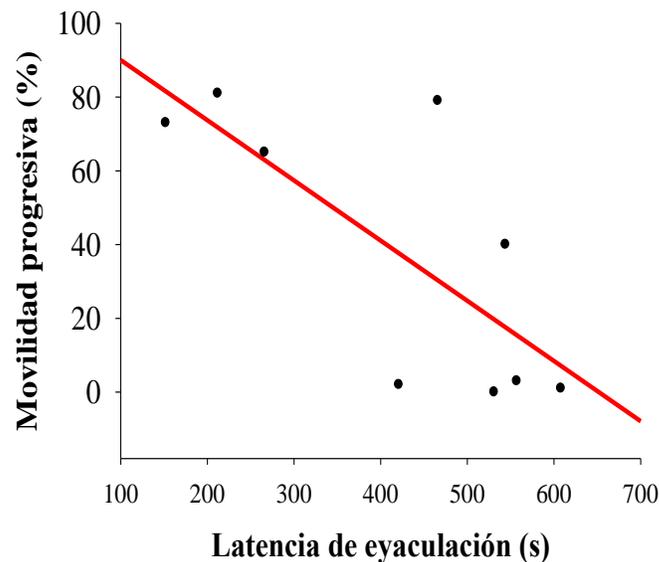
**Fig. 16** Correlaciones de Pearson entre parámetros copulatorios y del eyaculado en el enfrentamiento entre machos de fenotipo rápido. **A)** Se encontró correlación positiva entre el ancho del tapón seminal con el intervalo inter-intromisión y **B)** la latencia de eyaculación.

### 7.5.2 Enfrentamiento copulatorio entre machos Rápidos vs Normales

No se encontró correlación entre ningún parámetro copulatorio con los del eyaculado cuando se enfrentaron los machos rápidos contra los normales y tampoco se encontró correlación entre estos parámetros en los machos rápidos en el contexto sin enfrentamiento.

### 7.5.3 Enfrentamiento copulatorio entre machos Normales vs Normales

Cuando se enfrentaron machos de fenotipo normal se encontró una correlación negativa entre la latencia de eyaculación con la movilidad espermática ( $r=-0.74$ ,  $p=0.02$ , **Fig. 17**).



**Fig. 17** Correlaciones de Pearson entre parámetros copulatorios y del eyaculado en el enfrentamiento entre machos de fenotipo normal. Se encontró correlación negativa entre la movilidad espermática con la latencia de eyaculación.

No se encontró correlación entre parámetros copulatorios con los del eyaculado en el contexto sin enfrentamiento.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Fenotipos copulatorios encontrados

Se ha descrito que en las ratas macho existen tres fenotipos copulatorios: rápido, normal y lento (Olivier *et al.* 2006). En la población de ratas del presente estudio encontramos dos de los fenotipos: rápido y normal. Esto probablemente se debe a que a lo largo de varios años se ha priorizado, en el bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la UAT, la cruce de machos cuya serie eyaculatoria sea menor a 15 min. De hecho, la mayoría de los machos de fenotipo copulatorio normal los obtuvimos del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, de la UNAM.

Los machos fueron asignados a uno de los dos fenotipos (rápidos o normales) después de haberles realizado de 4 a 6 pruebas de entrenamiento copulatorio. En la mayoría de los machos de fenotipo rápido bastaron 4 pruebas, mientras que en los machos de fenotipo normal la mayoría de ellos hicieron 6 pruebas porque en la primera o en la primera y segunda prueba no alcanzaron a eyacular. Cabe mencionar que en las últimas 4 pruebas, los machos eyaculaban manteniendo su latencia de eyaculación. Aunque las primeras latencias eran mayores, la estadística no mostró diferencias significativas. Por lo que sugerimos que el entrenamiento copulatorio facilita el establecimiento de los fenotipos. En otras palabras, los machos rápidos presentaron latencias menores que las de los machos normales, tal como se ha mostrado en otros estudios también realizados con ratas (Pattij *et al.* 2005). Nuestros datos del entrenamiento copulatorio confirman las evidencias de que las ratas macho presentan un comportamiento estable que se corresponde con uno de los fenotipos copulatorios (Pattij *et al.* 2005). También hubo ratas que no desplegaron ningún patrón copulatorio o sólo montas, asignando a estos machos como no-copuladores (Portillo *et al.* 2006).

Se ha propuesto que las diferencias en el comportamiento copulatorio tienen un origen neurobiológico y reflejan que la activación del circuito nervioso relacionado con la eyaculación es diferente (Pattij *et al.* 2005). Las estructuras del circuito incluyen al área preóptica media, amígdala medial, núcleo paraventricular hipotalámico, así como neuronas de los segmentos espinales lumbosacros que forman al generador de la eyaculación. La activación de este circuito responde a la estimulación sensorial, particularmente la olfativa

(Rosenzweig *et al.* 2001), así como a la estimulación táctil peneana a través del nervio dorsal del pene que es una rama del nervio pudendo (McKenna y Nadelhaft, 1986).

En los machos que corresponden al fenotipo rápido la fase de expulsión de la eyaculación ocurre más tempranamente, según se ha mostrado con técnicas electrofisiológicas (Borgdorff *et al.* 2009). Esto podría deberse a cambios en la activación del generador espinal de la eyaculación, que es clave para que ocurra la expulsión seminal (Borgdorff *et al.* 2008). A su vez, se sabe que varios neurotransmisores pueden afectar la función del generador espinal y con ello contribuir a la expulsión seminal (Carro-Juárez y Rodríguez-Manzo 2003). Uno de los posibles neurotransmisores involucrados podría ser la oxitocina. Así, se ha mostrado que los machos de fenotipo rápido presentan mayor densidad de neuronas oxitocinérgicas en el núcleo supraóptico del hipotálamo (Pattij *et al.* 2005). Además, existe correlación entre la densidad neuronal y el número de eyaculaciones de cada fenotipo; esto es, a mayor número de eyaculaciones es mayor la densidad (Pattij *et al.* 2005). Se sabe que las neuronas oxitocinérgicas del núcleo supraóptico y paraventricular del hipotálamo alcanzan a las neuronas espinotalámicas lumbosacras que forman parte del generador espinal (Bancila *et al.* 2002).

También, se ha sugerido que otros grupos nerviosos podrían estar participando en la regulación del comportamiento copulatorio. Tal como el núcleo espinal del bulbocavernoso (Schoroder 1980). Este núcleo está formado por motoneuronas lumbares que inervan al músculo bulbocavernoso (Breedlove y Arnold 1980), cuya contracción es necesaria para que ocurra la expulsión seminal durante la eyaculación (Sachs 1982). Se ha mostrado que en los machos de fenotipo rápido, la contracción del bulbocavernoso ocurre más tempranamente que en los machos de fenotipo normal y lento (Borgdorff *et al.* 2009).

Un estudio reciente y por demás interesante muestra que el número y morfología de las motoneuronas que inervan al bulbocavernoso dependen de la estimulación genital mediante lamidos que las crías macho reciben de sus madres durante el periodo postnatal temprano. (Lenz y Sengelaub 2006). Tal estimulación genital es crucial para la sobrevivencia de las motoneuronas que inervan al bulbocavernoso, una vez establecidas, permanecen hasta la edad adulta (Moore *et al.* 1992). Por los resultados anteriores, se ha sugerido que los cambios en la función de estas motoneuronas se deben a las diferencias individuales de la estimulación

genital provista por la madre (Borgdorff *et al.* 2009). Entonces, según la estimulación materna podría predecirse el fenotipo de la descendencia (Lenz y Sengelaub 2010). De hecho, se ha mostrado que la reducción del cuidado materno incide en la conducta copulatoria porque produce incrementos en la latencia de eyaculación, intervalo interintromisión e intervalo posteyaculatorio (Moore 1984).

Los distintos fenotipos copulatorios tienen diferencias en el nivel de estimulación sexual y en la sensibilidad peneana para alcanzar la eyaculación (Olivier *et al.* 2006, Pattij *et al.* 2005). Así por ejemplo, las ratas de fenotipo rápido requieren menos estimulación sexual para eyacular porque su sensibilidad peneana es alta (Olivier *et al.* 2006). Además, existen diferencias en el potencial eréctil entre los machos. Así, los machos de fenotipo lento tienen disminuido el potencial eréctil porque el “hit rate” ( $NI/NI+NM$ ) se encuentra por debajo de los valores de los otros fenotipos (Pattij *et al.* 2005).

En la población humana también se han encontrado tres fenotipos: eyaculadores prematuros, normales y retardados. Además, los fenotipos se distribuyen de la misma manera que en la población de ratas (10% prematuros, 80% normales, 10% retardados). Estos fenotipos no representan disfunciones sexuales sino son parte de la variabilidad biológica (Waldinger *et al.* 2005). Recientemente, se han evidenciado diferencias en la estimulación táctil y en la latencia de eyaculación en hombres. Se ha mostrado que los eyaculadores prematuros tienen mayor sensibilidad peneana (Rowland 1998) y los retardados tienen disminuida la función eréctil (Rowland *et al.* 2004).

## **8.2 Efecto del enfrentamiento sobre la cópula y el eyaculado**

### **8.2.1 Cópula y eyaculado sin distinción de fenotipos**

Nuestros resultados mostraron que los fenotipos copulatorios fueron estables, es decir, los machos rápidos se mantuvieron rápidos y los normales como normales tanto en las pruebas copulatorias de entrenamiento como en las pruebas sin competencia, es decir, cuando en el redondel de prueba había un macho y una hembra. Sin embargo, durante las pruebas de competencia que incluían a dos machos y una hembra en el mismo redondel notamos que hubo cambios en la conducta copulatoria. El modelo teórico de competencia espermática planteado por Parker hace más de 43 años no predice nada al respecto, porque hasta hace

relativamente poco tiempo 6-7 años, se han diferenciado en las poblaciones de machos, al menos de ratas y hombres que existen fenotipos copulatorios distintos (Olivier *et al.* 2006, Pattij *et al.* 2005).

Independientemente de ello, se han llevado a cabo estudios no teóricos, sino experimentales en los que se ha concluido que el enfrentamiento entre machos modifica la conducta copulatoria. Se ha mostrado así, que el enfrentamiento entre ratas macho de diferentes cepas disminuye el número de intromisiones, latencia de intromisión y latencia de eyaculación (Dewsbury y Hartung 1980), o sólo disminuye la latencia de eyaculación (Stockley y Preston 2004). Otros parámetros como la latencia de intromisión y el intervalo posteyaculatorio también se modifican, el primero incrementa y el segundo disminuye durante el enfrentamiento (Dewsbury y Hartung 1980, Estep 1988, respectivamente). Esto también ocurre en las ratas de la cepa Long Evans (*Rattus norvegicus*) así como en la rata (*Rattus rattus*); incluso en el ratón (*Mus musculus*).

En nuestro estudio, los enfrentamientos entre machos provocaron la disminución de la latencia de eyaculación independientemente del fenotipo (más adelante se discute con detalle los enfrentamientos según los fenotipos). Sólo en el caso de los enfrentamientos entre machos rápidos se produjo además de la disminución en la latencia de eyaculación, la reducción del número de intromisiones y del intervalo inter-intromisión.

Se sabe que los machos identifican el fenotipo del rival mediante señales olfativas, visuales y/o auditivas que les indican el riesgo de competencia (Pound y Gage 2004). Así mismo, el comportamiento entre los rivales facilita la identificación del riesgo de competencia. En nuestro estudio observamos que durante el tiempo de habituación en el redondel (5 min), algunos machos se montan entre sí, lo que podría interpretarse como un tipo de intimidación. Se ha mostrado que los machos que son montados repetidamente disminuyen sus intentos de cópula con la hembra (Dewsbury y Hartung 1980). De hecho, en condiciones naturales unos machos copulan mientras que otros no lo hacen (McClintock y Anisko 1982).

Se ha sugerido que la disminución en los parámetros copulatorios, facilita ganar la competencia, lo que probablemente es una ventaja reproductiva para que los machos puedan aparearse con más hembras y dejar más descendencia (Birkhead y Moller 1998). Cuando el macho copula en menor tiempo, tiene la probabilidad de copular con más hembras, incluso

con las que han sido previamente inseminadas por otros machos, así que se propicia la competencia entre espermatozoides de los distintos machos, es decir, la lucha por la paternidad de las crías (Hogg 1988).

En cuanto al efecto del enfrentamiento entre machos sobre el eyaculado, el modelo teórico de Parker (1970) se concreta a proponer que el enfrentamiento incrementa el número espermático expelido. Por un lado, con nuestros resultados comprobamos que, en efecto, se incrementa significativamente la cuenta espermática, al margen, del fenotipo copulatorio de los machos enfrentados. Por el otro, encontramos que la reducción en los parámetros copulatorios independientemente del fenotipo incide en la movilidad espermática. En todos los enfrentamientos, el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva disminuyó. Este efecto fue extremadamente notable cuando los enfrentamientos ocurrieron entre machos de fenotipo rápido *vs* rápido, y fue menos notorio cuando el enfrentamiento sucedió entre machos de fenotipo normal.

Se ha propuesto que expeler mayor cantidad de espermatozoides es una ventaja reproductiva para ganar más fertilizaciones ya que, en los mamíferos la mayoría de espermatozoides mueren y sólo unos cientos alcanzan el sitio de fertilización (Birkhead y Moller 1998). La propuesta de Birkhead y Moller (1998) parece razonable, no obstante, no contempla la movilidad espermática. Es claro que tal parámetro no está incluido porque el presente estudio es el primero en analizar la movilidad espermática del eyaculado tras el enfrentamiento copulatorio. Los estudios experimentales en diferentes especies de roedores que se conocen están bajo distinto riesgo de competencia espermática muestran que en aquellas de mayor competencia se favorece el incremento en la movilidad espermática (Gómez-Montoto *et al.* 2011). La movilidad, entonces, se analizó sin considerar enfrentamientos verdaderos. Se esperaría que en un contexto de competencia el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva incrementara o al menos se mantuviera dado que esta característica es necesaria para viajar por los conductos femeninos, sobrepasar las barreras físicas y penetrar las envolturas del óvulo (Birkhead *et al.* 1999). Es de llamar la atención que el modelo teórico de competencia espermática de Parker (1970) no prediga nada acerca de este parámetro seminal ni tampoco sobre los tapones seminales. Quizás el modelo no trata sobre tapones seminales porque no todos los machos forman un tapón al eyacular. Sin embargo,

dado que el tapón seminal, al menos en roedores, es fundamental para el transporte espermático transcervical (Blandau 1945), también evaluamos sus parámetros (peso, tamaño y volumen) y no encontramos diferencias significativas en ninguno de ellos. Nuestros resultados en la rata son similares a los encontrados previamente en el ratón (*Mus musculus domesticus*, Ramm y Stockley 2007). Estos datos en la rata y el ratón confirman la idea de que el tapón seminal es una adaptación en respuesta a la competencia espermática para maximizar el transporte espermático. Cabe recordar que los tapones de tamaño (10-12 mm de largo x 5-6 mm de ancho) y peso (100-120 mg) son efectivos para realizar el transporte espermático transcervical, en tanto que los tapones de menor tamaño y peso lo hacen de manera ineficaz (Carballada y Esponda 1992). Por lo anterior, es de esperar que en los contextos copulatorios con enfrentamiento, el tamaño y peso de los tapones se incremente o al menos mantenga sus características (Martan y Shepherd 1976; Voss 1979, Dewsbury 1988b). El tamaño del tapón seminal, a su vez, se correlaciona positivamente con el tamaño de las glándulas sexuales accesorias, es decir, a mayor tamaño del tapón seminal mayor es el tamaño de las vesículas seminales y de la próstata, lo que se ha comprobado en las especies de roedores más promiscuas (Ramm *et al.* 2005).

### **8.2.2 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos rápidos vs rápidos**

Llamó nuestra atención el hecho de que los machos de fenotipo rápido disminuyeron sus parámetros de manera significativa durante los enfrentamientos. Siendo rápidos ambos contrincantes pudo haber ocurrido que mantuvieran los valores de sus parámetros copulatorios o que los redujeran de una manera no significativa estadísticamente. No fue así, los machos rápidos que ganaron los enfrentamientos disminuyeron significativamente tres de sus parámetros (número de intromisiones, intervalo inter-intromisión y latencia de eyaculación). Los valores de los parámetros disminuyeron prácticamente a la mitad del valor que mostraron durante las cópulas sin enfrentamiento. Cabe citar nuevamente los estudios de Dewsbury y Hartung (1980), Stockley y Preston (2004), Ramm y Stockley (2007), anteriormente mencionados.

El efecto de tales reducciones en los parámetros copulatorios, en particular la latencia de eyaculación, que fue de ( $171.5 \pm 25.24$  s) incidió importantemente en la movilidad

espermática, provocando que escasos espermatozoides (4.5%) presentaran movilidad progresiva. Como se ha dicho, este tipo de movilidad es crucial para que los espermatozoides alcancen el óvulo y puedan fertilizarlo. El hecho de que, los espermatozoides eyaculados tan prematuramente no se muevan hace pensar en la participación de las glándulas sexuales accesorias, como se discutirá más adelante.

Respecto al número espermático hubo un gran incremento siendo el promedio  $122.63 \pm 16.89$  millones de espermatozoides debido al enfrentamiento y  $50.27 \pm 13.26$  millones sin enfrentamiento. Si los machos de fenotipo rápido expelen gran cantidad de espermatozoides siendo la mayoría de ellos de movimiento *in situ* o inmóviles ¿para qué copula el macho rápido? Es poco probable que sus espermatozoides logren fertilizar a los óvulos. De modo que es posible que sea una manera de promover la competencia espermática. Claro, porque los espermatozoides del macho rápido estarían obstruyendo el paso a los espermatozoides del macho rival. Eso de que los espermatozoides no fertilicen habría que probarlo experimentalmente. Podría resultar que después de algunas horas de haber ocurrido la eyaculación, hubiera mecanismos femeninos que impulsaran a los espermatozoides favoreciendo la preñez dando lugar a una camada aunque fuera de pocas crías. Esta sería una manera de regular también la población de ratas. No solo eso, sino de mantener el fenotipo copulatorio rápido en la población. Al ser pocas las crías podría conservarse el bajo porcentaje de fenotipo rápido, característico en las poblaciones de ratas.

En ambientes naturales es probable que los machos rápidos tengan más posibilidades de copular con más hembras. Es posible también que las hembras con las que copulen justo estén recién inseminadas. Sin embargo, dado su fenotipo rápido reiniciarían la cópula, tan pronto como les fuera posible, al realizar de 3-4 intromisiones podrían retirar el tapón seminal de la vagina (Lucio *et al.* 1994) y con ello, interrumpir el transporte espermático. Así evitaría la preñez del macho que le antecedió. Incluso también puede ocurrir que el macho rápido no sólo retire el tapón de un rival sino que, una vez desalojado el tapón de la vagina, el macho pueda expeler su eyaculado promoviendo así la competencia espermática (Dewsbury 1981, 1985; Clutton-Brock 1989).

### 8.2.3 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos rápidos vs normales

Cuando se enfrentaron los machos rápidos contra los normales, ganaron la competencia copulatoria los rápidos, es decir, los rápidos fueron los que eyacularon. A pesar de que los machos rápidos tenían menor latencia de eyaculación que los machos normales, el enfrentamiento produjo la reducción de este parámetro. Tal disminución fue del 30% respecto al grupo control (y no del 50% como en el caso de rápidos vs rápidos). Esto nos hace sugerir que los machos pueden distinguir el nivel de rivalidad del contrincante. En otras palabras, el macho al enfrentarse con otro de su mismo fenotipo, *e.g.* rápido vs rápido reduce más parámetros copulatorios que cuando el enfrentamiento es de menor rivalidad, *e.g.* rápido vs normal. Así que, no es lo mismo enfrentarse con un rival rápido que enfrentarse con un rival normal ya que se reducen 3 ó 1 parámetro copulatorio. Consecuentemente, el efecto sobre el eyaculado es distinto.

En los enfrentamientos rápidos vs normales, el 50% de los machos que eyacularon presentó fluido seminal viscoso. Esto contrasta con el 75% de machos que eyacularon fluido viscoso cuando los enfrentamientos fueron entre machos rápidos vs rápidos. Entonces, en el enfrentamiento de machos rápidos vs normales es menor el porcentaje de animales con viscosidad seminal aumentada. Esto podría deberse a que la concentración espermática estaba incrementada ( $75.35 \pm 9.65$  millones) aunque no tanto como en el enfrentamiento entre machos rápidos ( $122.62 \pm 16.89$ ). Es posible que en este tipo de enfrentamiento (rápido vs normal), el macho rápido tenga más oportunidad, fisiológicamente hablando, de que el fluido seminal expelido pueda contener más de las secreciones de las glándulas accesorias, lo que le permite mayor movilidad espermática. De hecho, en este enfrentamiento de machos rápidos vs normales, la movilidad progresiva fue 8.85% mientras que en los enfrentamientos entre machos rápidos vs rápidos. Fue del 4.5%.

Estos resultados, analizándolos así, comparativamente indican que el desempeño copulatorio tiene efecto en la calidad del eyaculado. Recordemos que en el primer tipo de enfrentamiento (rápidos vs rápidos) se redujeron 3 parámetros copulatorios, en el eyaculado, el número de espermatozoides estaba muy incrementado y muy pocos tenían movilidad progresiva. En tanto que en el segundo tipo de enfrentamiento (rápidos vs normales) se redujo

solo un parámetro copulatorio. Esto resultó en el incremento en el número espermático y mayor porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva.

Parece entonces que si el umbral de eyaculación se acorta porque el número de intromisiones se reduce al igual que el intervalo inter-intromisión, el eyaculado tendrá gran cuenta espermática y mucha inmovilidad espermática. En cambio, si se mantiene el número de intromisiones y su intervalo entre ellas, más espermatozoides de aquella gran cantidad expelida tendrán movilidad progresiva.

Aunque no es relevante tratar el caso de un solo animal, no debe omitirse. Por ello, mencionamos que un macho sometido a enfrentamiento rápido vs normal expulsó plasma seminal sin espermatozoides dado que solo hubo tapón seminal. El tapón seminal presentó características normales (peso y tamaño). Este dato sugiere que la emisión seminal no siempre se acompaña del transporte de los espermatozoides. Recordemos que los espermatozoides a ser eyaculados recorren un trayecto, desde la cauda epididimaria hasta la uretra prostática (Setchell *et al.* 1994). En tanto que las secreciones que forman el plasma seminal recorren un trayecto mucho menor. Se sabe que las seminales, las coagulantes y los conductillos prostáticos drenan directamente en la uretra prostática (Setchell *et al.* 1994).

#### **8.2.4 Cópula y eyaculado entre fenotipos de machos normales vs normales**

El último tipo de enfrentamiento fue entre machos de fenotipo normal. Los machos que ganaron el enfrentamiento, es decir los que eyacularon, disminuyeron 37% su latencia de eyaculación, es decir de  $413.2 \pm 49.92$  s durante el enfrentamiento contra el  $662.81 \pm 82.27$  s sin enfrentamiento. La **Tabla 8** resume los valores de todas las latencias de eyaculación con el propósito de visualizar más fácilmente el efecto de la reducción de este parámetro en el número espermático y movilidad espermáticas con y sin enfrentamiento.

**Tabla 8.** Latencias de eyaculación según el fenotipo copulatorio con y sin enfrentamiento y su relación con la cuenta y movilidad espermáticas.

	Tipos de enfrentamientos copulatorios					
	<b>Rápidos vs rápidos</b>		<b>Rápidos vs normales</b>		<b>Normales vs normales</b>	
	LE (s)	Cuenta (1x10 <sup>6</sup> )	LE (s)	Cuenta (1x10 <sup>6</sup> )	LE (s)	Cuenta (1x10 <sup>6</sup> )
	Mov. prog. (%)	Mov. prog. (%)	Mov. prog. (%)	Mov. prog. (%)	Mov. prog. (%)	Mov. prog. (%)
Sin enfrentamiento	389.12	50.27 74.75	389.12	50.27 74.75	662.81	70.5 55.00
Con enfrentamiento	171.5 55.79%	122.62 4.5	275.37 29.30%	75.35 8.85	413.20 37.70%	72.82 38.22

LE=Latencia de eyaculación, s=segundos, spz=espermatozoides, Mov. prog.=Movilidad progresiva expresada en % de espermatozoides que la presentan.

Los enfrentamientos copulatorios producen diferentes cambios en las dos principales características del eyaculado. Los machos rápidos expelieron más del doble de los espermatozoides comparado con la cópula sin enfrentamiento. No obstante, la movilidad progresiva de los espermatozoides fue mínima comparada con la cópula sin enfrentamiento. Los machos rápidos que les ganaron a los normales incrementaron el 50 % la cuenta espermática aunque la movilidad siguió siendo baja. Finalmente, los machos normales expelieron la misma cantidad de espermatozoides en las cópulas con y sin enfrentamiento y la movilidad se mantuvo.

Cabe enfatizar que en este tipo de enfrentamiento normal vs normal así como el rápido vs normal no se modificaron ni el número de intromisiones ni el intervalo inter-intromisión. Empero, los valores de los parámetros en uno y otro enfrentamiento difieren aunque más en el intervalo inter-intromisión. Para el caso de los normales vs normales, los valores fueron  $10.3 \pm 1.14$  intromisiones y  $40.39 \pm 3.18$  s de intervalo inter-intromisión; mientras que fue de  $9.12 \pm 1.31$  intromisiones y  $32.35 \pm 3.64$  s de intervalo inter-intromisión en el enfrentamiento

entre rápidos vs normales. Estas pequeñas desigualdades copulatorias podrían explicar las diferencias en los eyaculados de los dos tipos de enfrentamientos. Respecto a los parámetros del eyaculado, como ya se indicó ninguno de los parámetros seminales se modificó.

La viabilidad espermática, otro de los parámetros del eyaculado que se refiere al porcentaje de espermatozoides vivos y porcentaje de muertos, según nuestros resultados, no guardó relación con la competencia espermática producida por el enfrentamiento copulatorio. En la literatura se menciona que la viabilidad decrementa en especies poliándricas respecto a las monándricas (Hunter y Birkhead 2002).

Tampoco hubo relación con la morfología espermática, es decir, el porcentaje de espermatozoides de forma normal y el porcentaje de espermatozoides anormales. Prácticamente más del 90% los espermatozoides mostraron morfología normal en los eyaculados de los animales con o sin competencia en cualquiera de los fenotipos copulatorios. Se ha sugerido que en especies poliándricas, el porcentaje de espermatozoides normales es mayor que en las especies monándricas (Gómez-Montoto *et al.* 2011).

En general se ha propuesto que la calidad del eyaculado mejora conforme incrementa el tiempo para alcanzar el umbral eyaculatorio (Pound *et al.* 2002). Debido a que el macho recibe más estimulación sexual incrementa la duración e intensidad de la contracción de la musculatura lisa de la cauda epididimaria, así como la del vaso deferente, lo que facilita el transporte de los espermatozoides durante la fase de emisión seminal (Senger 1997).

Por lo anterior, es posible que la estimulación producida por las intromisiones, así como la duración de la excitación sexual sean importantes en la calidad del eyaculado.

Así que, considerando los tres tipos de enfrentamientos sugerimos que cada fenotipo tiene un tiempo óptimo de estimulación para alcanzar su umbral eyaculatorio y producir un eyaculado de buena calidad. Sin embargo, si algunos factores como la competencia interfieren, los machos pueden reducir el tiempo de estimulación y alcanzar el umbral eyaculatorio más rápido, lo que fisiológicamente no es conveniente porque afecta la movilidad espermática progresiva.

Es sabido que altas concentraciones de dopamina en el área preóptica (APO) facilitan la cópula (Hull *et al.* 2004). También, se ha mostrado en estudios farmacológicos, que la administración de L-Dopa (precursor en la síntesis de dopamina) disminuye el número de

intromisiones, las latencias de intromisión y de eyaculación, así como el intervalo posteyaculatorio de las ratas sexualmente expertas (Tagliamonte *et al.* 1974, Paglietti *et al.* 1978). Se ha mostrado que la dopamina se libera durante la fase de excitación sexual, así como durante la cópula. Incluso que el simple olor de una hembra receptiva basta para elevar los niveles de dopamina en el macho. Entonces como el efecto facilitador de la dopamina ocurre desde la fase de excitación puede explicarse por qué los machos eyaculan con menos intromisiones y en menor tiempo durante los enfrentamientos.

Por otro lado, se sabe que la excitación sexual incrementa gradualmente durante un encuentro copulatorio debido a los estímulos visuales, olfativos, auditivos, así como sensorial genital que recibe el macho. Tal excitación sexual se acumula gradualmente hasta alcanzar el umbral eyaculatorio que desencadena el patrón motor de eyaculación acompañado de la expulsión seminal (McKenna *et al.* 1991).

Es probable que existan diferencias en el umbral eyaculatorio dependiendo del fenotipo copulatorio. Cabe recordar que el umbral eyaculatorio depende del número de intromisiones que preceden a la eyaculación y de la latencia de eyaculación (Bitran y Hull 1987 y Waldinger 2003). Quizás, los machos de fenotipo rápido tienen menor umbral que los machos normales y más aún comparado con el umbral de los machos lentos. Pese a que los rápidos pudieran tener el menor de los umbrales, el enfrentamiento copulatorio provocó que dicho umbral disminuyera aún más. Entonces, los machos rápidos en competencia alcanzaron el umbral con menos intromisiones porque el tiempo entre ellas también disminuyó. En la rata, se sabe que la excitación sexual es provocada por las intromisiones que realiza el macho (Bermant 1964). Además, se ha demostrado que el intervalo de tiempo entre cada intromisión (intervalo inter-intromisión) también es importante para alcanzar el umbral eyaculatorio. Bermant (1964) propuso que la cantidad de excitación producida por las intromisiones puede diferenciarse en tres niveles: baja, media y alta. Los machos que realizan de 10-12 intromisiones espaciadas cada 20-30 s alcanzan la excitación media, de modo que eyaculan en un tiempo promedio. Sin embargo, cuando el macho es forzado a realizar intromisiones espaciadas cada 2-3 min, bastan 4-5 intromisiones para alcanzar el nivel de excitación alto y eyacular. Por el contrario, cuando las intromisiones forzadas ocurren cada 7 min, ninguno de los machos eyaculan porque la excitación no se acumula, se pierde, por lo que el nivel de excitación permanece bajo. En

nuestros experimentos de enfrentamiento copulatorio, es posible que un efecto similar produjeran las pocas intromisiones realizadas a intervalos de tiempo menor. En nuestro caso, el intervalo inter-intromisión no fue forzado, la presión que existía era la competencia misma con el rival. Así las intromisiones, aunque reducidas en número pero con mayor frecuencia, produjeron que el macho alcanzara en menor tiempo su umbral eyaculatorio.

Hasta ahora, se desconocen las consecuencias de alcanzar el umbral eyaculatorio con pocas intromisiones sobre el semen expelido, ni Bermant (1964), ni Parker (1970) lo analizaron. Este trabajo muestra las primeras evidencias del efecto de la competencia sobre las características del eyaculado, más allá de la concentración espermática.

Respecto al eyaculado, los machos rápidos incrementan la cuenta espermática y disminuyen la movilidad espermática progresiva. El incremento en la cuenta espermática ya había sido predicho por los modelos teóricos y experimentales de competencia espermática (Parker 1970, 1982; Pound y Gage 2004, respectivamente). Sin embargo, la pérdida de movilidad espermática progresiva debido a la competencia no se había estudiado.

En muchas especies de mamíferos, los espermatozoides de la cauda epididimaria no presentan movilidad. Ésta resulta del paso de los espermatozoides a lo largo conducto epididimario; a medida que avanzan por el ducto, mayor es el porcentaje de espermatozoides que adquieren movilidad (Goyal *et al.* 2001). Además, una vez que confluyen los espermatozoides con las secreciones de las glándulas sexuales accesorias en la uretra próstática incrementan su movimiento flagelar (Bedford y Yanagimachi 1992, Poiani 2006). Existen varias sustancias producto de las glándulas sexuales accesorias consideradas importantes para activar la movilidad espermática. El zinc por ejemplo es muy importante, es producido por la próstata. Se ha mostrado que existe correlación positiva entre la concentración de zinc del plasma seminal y el incremento en la motilidad espermática (Sanada y Yoshida 1985). La presencia de calcitonina (Mungan *et al.* 2001) y glutatión del plasma seminal de humanos se asocia con la movilidad espermáticas; altos niveles la incrementan y los bajos la disminuyen (Raijmakers *et al.* 2003). En bovinos, altas concentraciones de la proteína ácida del fluido seminal se asocia con la reducción en la velocidad espermática (Schoeneck *et al.* 1996)

En otras especies de mamíferos, los espermatozoides adquieren movilidad cuando entran en contacto con las secreciones del tracto reproductor femenino como los fluidos uterinos (humano, rata, Casslén 1987, Bedford y Yanagimachi 1992, respectivamente) o del oviducto (ratón, Suárez y Osman 1987, Bedford y Yanagimachi 1992). En humanos, el fluido uterino contiene aminoácidos como la taurina, su concentración alta produce el incremento en la movilidad espermática (Casslén 1987).

En los eyaculados obtenidos de los enfrentamientos de fenotipos rápidos *vs* rápidos y rápidos *vs* normales, gran porcentaje de los espermatozoides no presentaron la movilidad progresiva, este efecto podría deberse a tres circunstancias. La primera, y no por ello, la más importante, es que los machos al reducir considerablemente su latencia de eyaculación para ganar la competencia, reducen el tiempo mínimo necesario que requieren las glándulas sexuales accesorias para drenar sus secreciones en la uretra prostática. Dado que los tapones seminales de los eyaculados de estos machos son de tamaño y peso adecuado, es posible que el umbral de las seminales y coagulantes, responsables de la formación del tapón, sea menor que el requerido por la próstata. Así, el efecto recaería principalmente en la no-movilidad de los espermatozoides debido a la falta o baja concentración de zinc, que se sabe es un producto prostático. Es probable que no sólo el zinc, sino también proteínas, iones, así como determinadas sustancias propias de cada glándula accesoria sean drenadas a la uretra aunque no en la cantidad óptima, produciendo así que no todos los espermatozoides entren en contacto con los factores que favorecen la movilidad espermática. No obstante, el umbral de la cauda epididimaria también pudiera ser distinto. Así que, puede ser que la secreción de las glándulas sexuales accesorias y el transporte de los espermatozoides desde la cauda a la uretra prostática respondan mediante mecanismos independientes durante el mismo proceso de emisión.

La segunda circunstancia es que los fluidos del tracto reproductor de la hembra ejercen alguna influencia sobre los espermatozoides que ahí se albergan (selección críptica; Eberhard 1996) por lo que probablemente, como sucede en insectos, se secreten compuestos químicos que inmovilicen temporalmente a los espermatozoides. Así, también los anticuerpos citotóxicos femeninos contra los espermatozoides pueden jugar un papel fundamental en la elección críptica. Esto porque se ha mostrado que tales anticuerpos inhiben (Menge y Beitner 1989) o reducen la movilidad espermática (Daru *et al.* 1988). Quizás, la hembra requiere más

estimulación genital o más estimulación genital provista con cierta frecuencia, lo que se conoce como el “pacing” (Paredes y Vázquez 1999) para que las secreciones del fluido uterino contengan las sustancias que activen a los espermatozoides.

La tercera circunstancia es que el macho rival, al saber que está en competencia secreta algunas sustancias que impidan la movilidad espermática. Es claro que esta acción impedirá no solo la movilidad de los espermatozoides del contrincante sino también afectará la movilidad de sus propios espermatozoides. En algunas especies como la rata, los espermatozoides de la cauda epididimaria y vaso deferente están embebidos en inmovilina, una proteína visco-elástica secretada por el epidídimo que inmoviliza a los espermatozoides (Usselman y Cone 1983). Otra sustancia que podría estar involucrada es la fibronectina, ya que se ha mostrado que las altas concentraciones de ésta reducen la movilidad (Wennemuth *et al.* 2001).

### **8.3 Correlaciones entre parámetros copulatorios con los del eyaculado de machos de diferente fenotipo durante el enfrentamiento**

Se encontró correlación positiva en el enfrentamiento de rápidos *vs* rápidos entre el intervalo inter-intromisión, latencia de eyaculación y duración de la serie eyaculatoria con la movilidad espermática progresiva. Se observa que mientras más tiempo tarde el macho de fenotipo rápido en eyacular (171.5 s), la movilidad espermática disminuye drásticamente. Sólo el 4.5% de los espermatozoides tienen movilidad progresiva. En cambio, en el enfrentamiento entre normales *vs* normales, la correlación fue negativa entre la latencia de eyaculación (413.2 s) con la movilidad espermática (38.2%). Sin embargo, el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva es similar al que se presenta sin enfrentamiento (55%). Esto indica que el enfrentamiento copulatorio disminuye el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva independientemente de los fenotipos que se estén enfrenando. No obstante, es más conveniente el que una rata sea fenotipo normal porque en un ambiente natural al enfrentarse con otro tendrá más posibilidades de ser el padre de las crías. Probablemente esto explique porque la mayoría de las ratas (80%) presenta el fenotipo normal como se mostró previamente (Pattij *et al.* 2005). Éstas son las que más oportunidades tienen de fecundar. Esto no significa

que los machos de fenotipo rápido no sean rivales copulatorios porque por un lado, pueden desprender el tapón seminal de otro y con ello interrumpir el transporte espermático. Por el otro lado, el macho rápido podría copular con una hembra previamente apareada con un macho de fenotipo normal y competir espermáticamente. En este caso, el macho de fenotipo rápido tendría más posibilidades de que sus espermatozoides presentaran movilidad progresiva porque quizás la hembra que fue estimulada adecuadamente contribuya con las secreciones uterinas para mejorar tal movilidad favoreciendo así la competencia espermática.

Aunque en el presente estudio no hubo ratas de fenotipo lento podría esperarse que en un contexto competitivo presentaran menor porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva, ya que se ha sugerido, al menos en humanos, que los espermatozoides de eyaculadores retardados permanecen más tiempo en el vaso deferente distal y en la uretra lo cual se asocia con incremento en la mortalidad espermática (Pound *et al.* 2002). Esto sugiere que tampoco conviene ser un macho que tarde mucho en eyacular porque también se modifican las características del eyaculado, lo que reduce las posibilidades de fertilizar.

De esta manera, las aportaciones del presente estudio al modelo teórico de Parker son las siguientes: 1) que los enfrentamientos resultan en más o menos cambios en los parámetros copulatorios dependiendo del fenotipo copulatorio de los contrincantes. 2) que la ejecución copulatoria durante el enfrentamiento afectará más la calidad del eyaculado mientras más distintos sean los valores de los parámetros copulatorios del contexto sin competencia.

## 9. CONCLUSIÓN

El enfrentamiento entre machos es un factor muy importante que influye en la ejecución de la conducta copulatoria y, por lo tanto, en las características del eyaculado. Más aún, el efecto del enfrentamiento depende importantemente del fenotipo copulatorio (rápido, normal y lento). Así que el contexto (enfrentamiento o no-enfrentamiento y fenotipo copulatorio) en el que se produce un eyaculado es importante para determinar su calidad. Es por ello, que el modelo teórico de competencia espermática propuesto por Parker debería ser completado. Parker al no considerar los fenotipos copulatorios ni el tipo de enfrentamiento (rápido *vs* rápido, rápido *vs* normal, normal *vs* normal, entre otros) en sus modelos, hace pensar que sus predicciones teóricas no aplican en condiciones naturales. Es más, tales predicciones solo consideran el efecto del enfrentamiento sobre el número de espermatozoides, dejando al margen su movilidad. Ambos parámetros deben incluirse porque son los más importantes para estimar la fertilidad.

Entonces sugerimos que durante un enfrentamiento, es más conveniente el fenotipo copulatorio normal que el rápido. Quizás, el eyaculado del macho de fenotipo normal tenga más probabilidades de fertilizar más óvulos, porque la concentración y movilidad espermáticas son similares a las obtenidas en un contexto sin enfrentamiento. Por lo tanto, incrementa las oportunidades de ser el padre de mayor número de crías.

## 10. REFERENCIAS

- Adler N. T. y Zoloth S. R. 1970. Copulatory behavior can inhibit pregnancy in female rats. *Science*. 168: 1480-2.
- Bancila M., Giuliano F., Rampin O., Mailly P., Brisorgueil M. J., Calas A. y Vergé D. 2002. Evidence for a direct projections from the paraventricular nucleus of the hypothalamus to putative serotonergic neurons of the nucleus paragigantocellularis involved in the control of erection in rats. *European Journal of Neuroscience*. 16: 1240-1248.
- Beach F. A. 1966. Sexual behavior in the male rat. *Science*. 153: 769-70.
- Bedford J. M. y Yanagimachi R. 1992. Initiation of sperm motility after mating in the rat and hamster. *Journal of Andrology*. 13: 444-449.
- Bedford J. M., Rodger J. C. y Breed W. G. 1984. Why so many mammalian spermatozoa – a clue from marsupials? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 221: 221-233.
- Bermant G. 1964. Effects of single and multiple enforced intercopulatory intervals on the sexual behavior of male rats. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*. 57: 398-403.
- Birkhead T. R. y Moller A. P. 1998. Sperm competition and sexual selection. Academic Press. San Diego. Pp. 783.
- Birkhead T. R., Martínez J. G., Burke T. y Froman D. P. 199. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 266: 1759-64.
- Bitran D. y Hull E. M. 1987. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*. 11: 365-89.
- Blandau R. J. 1945. On the factors involved in sperm transport through the cervix uterine of the albino rat. *American Journal of Anatomy*. 77: 253-272.
- Borgdorff A. J., Bernabé J., Denys P., Alexandre L. y Giuliano F. 2008. Ejaculation elicited by microstimulation of lumbar spinothalamic neurons. *European Urology*. 54: 449-456.
- Borgdorff A. J., Rössler A. S., Clément P., Bernabé J., Alexandre L. y Giuliano F. 2009. Differences in the spinal command of ejaculation in rapid ejaculating rats. *The Journal of Sexual Medicine*. 6: 2197-205.
- Breed W. G. y Washington J. M. 1991. Mating behaviour and insemination in the hopping mouse (*Notomys alexis*). *Journal of Reproduction and Fertility*. 93: 187-94.

Breedlove S. M. y Arnold A. P. 1980. Hormone accumulation in a sexually dimorphic motor nucleus of the rat spinal cord. *Science*. 210: 564-566.

Buss C. D. y Estep D. Q. 1984. Sexual arousal in male pigtailed monkeys (*Macaca nemestrina*): effects of serial matings by two males. *Journal of Comparative Psychology*. 98: 227- 231.

Calhoun J. B. 1962. The ecology and sociology of the Norway rat. U. S. Dep. Health, Education and Welfare. Public Health Service. No.1008. Pp. 288.

Carballada R. y Esponda P. 1992. Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 95: 639-648.

Carro-Juárez M., Cruz S. L. y Rodríguez-Manzo G. 2003. Evidence for the involvement of a spinal pattern generator in the control of the genital motor pattern of ejaculation. *Brain Research*. 975: 222-228.

Casslén B. G. 1987. Free amino acids in human uterine fluid. Possible role of high taurine concentration. *The Journal of Reproductive Medicine*. 32: 181-184.

Chen Y., Li J., Simkin M E., Yang X. y Foote R. H. 1989. Fertility of fresh and frozen rabbit semen inseminated at different times is indicative of male differences in capacitation time. *Biology of Reproduction*. 41: 848-853.

Clutton-Brock T. H. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 236: 339-372.

Daru J., Williamson H. O., Rust P. F., Himm R. J. y Mathur S. 1988. A computerized postcoital test of sperm motility: comparison with clinical postcoital test and correlations with sperm antibodies. *Archives of Andrology*. 21: 189-203.

Darwin C. 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex*. Jhon Murray, London.  
Dewsbury D. A. 1988b. A test of the role of copulatory plug in sperm competition in deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Mammalogy*. 69: 854-857.

Dewsbury D. A. 1972. Patterns of copulatory A test for the role of copulatory behavior in male mammals. *Quarterly Review of Biology*. 47: 1-33.

Dewsbury D. A. 1981. An exercise in the prediction of monogamy in the field from laboratory data on 42 species of muroid rodents. *Biologist*. 63: 138-162.

Dewsbury D. A. 1982. Ejaculate cost and male choice. *Am. Nat.* 119: 601-610.

Dewsbury D. A. 1984. Sperm competition in muroid rodents. En: Sperm competition and the Evolution of Animal Mating Systems. RL Smith (Eds.). Academic Press, London. Pp. 547-571.

Dewsbury D. A. 1985. Interactions between males and their sperm during multi-male copulatory episodes of deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Animal Behaviour*. 33: 1266-1274.

Dewsbury D. A. 1988a. Sperm competition in deer mice (*Peromyscus maniculatus bairdi*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 22: 251-256.

Dewsbury D. A. 1988b. A test for the role of copulatory plugs in sperm competition in deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Mammalogy*. 69: 854-857.

Dewsbury D. A. y Hartung T. G. 1980. Copulatory behaviour and differential reproduction of laboratory rats in a two- male, one-female competitive situation. *Animal Behaviour*. 28: 95-102.

Dixson A. F. 1991. Sexual selection, natural selection and copulatory pattern in male primates. *Folia Primatologica*. 57: 96-101.

Dixson A. F. y Anderson M. J. 2004. Sexual behavior, reproductive physiology and sperm competition in male mammals. *Physiology & Behavior*. 83: 361-71.

Dziuk P. 1970. Estimation of optimum time for insemination of gilts and ewes by double-mating at certain times relative to ovulation. *Journal of Reproduction and Fertility*. 22: 277-282.

Eberhard W. G. 1996. Female control: sexual selection by cryptic female choice. Princeton University Press. New Jersey. Pp. 492.

Endries M. J. y Adler G. H. 2005. Spacing patterns of a tropical forest rodent, the spiny rat (*Proechimys semispinosus*), in Panama. *Journal of Zoology (London)*. 265: 147-155.

Estep D. Q. 1988. Copulations by other males shorten the post-ejaculatory intervals of pairs of roof rats, *Rattus rattus*. *Animal Behaviour*. 36: 299-300.

Ginsberg J. R. y Rubenstein D. I. 1990. Sperm competition and variations in zebra mating behavior. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 26: 427-434.

Gomendio M. 2002. Competición espermática. En Manuel Sole (Eds.): Evolución, la base de la biología. Proyecto Sur de Ediciones, S.L. España. Pp.261-269.

Gomendio M., Harcourt A. H. y Roldán E. R. S. 1998. Sperm competition in mammals. En Birkhead T. R. y Moller A. P. (Eds.): Sperm competition and sexual selection. Academic Press, San Diego. Pp. 667-751.

Gómez -Montoto L., Magaña C., Tourmente M., Martín-Coello J., Crespo C., Luque-Larena J. J., Gomendio M. y Roldan E. R. 2011. Sperm competition, sperm numbers and sperm quality in Muroid Rodents. PLoS One. 6: 1-10.

Goyal H. O., Braden T. D., Mansour M., Williams C. S., Kamaleldin A. y Srivastava K. K. 2001. Diethylstilbestrol-treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm motility parameters, but without alterations in sperm production and sperm morphology. Biology of Reproduction. 64: 927-34.

Harcourt A. H., Fossey D., Stewart K. J. y Watts D. P. 1980. Reproduction in wild gorillas and some comparisons with chimpanzees. Journal of Reproduction and Fertility. Supplement. 28: 59-70.

Harcourt A. H., Harvey P. H., Larson S. G. y Short R. V. 1981. Testis weight, body weight and breeding system in primates. Nature. 293: 55-7.

Harcourt A. H. 1981. Intermale competition and the reproductive behavior of the great apes. En Reproductive Biology of the Great Apes. CE Graham (Eds.). Academic Press, New York. Pp. 301-318.

Hogg J. T. 1988. Copulatory tactics in relation to sperm competition in Rocky Mountain bighorn sheep. Behavioral Ecology and Sociobiology. 22: 49- 59.

Hull E. M., Muschamp J. W. y Sato S. 2004. Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. Physiology & Behavior. 83: 291-307.

Hunter F. M. y Birkhead T. R. 2002. Sperm viability and sperm competition in insects. Current Biology. 12: 121-123.

Lanier D. L., Estep D. Q. y Dewsbury D. A. 1979. Role of Prolonged Copulatory Behavior in Facilitating Reproductive Success in a Competitive Mating Situation in Laboratory Rats. Journal of Comparative & Physiological Psychology. 93: 781-792.

Larsson K. 1956. Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. Almqvist and Wiksell. Stockholm. Pp. 14-35.

Lenz K. M. y Sengelaub D. R. 2006. Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. Brain Research. 1092: 87-99.

Lenz K. M. y Sengelaub D. R. 2010. Maternal care effects on the development of a sexually dimorphic motor system: The role of spinal oxytocin. *Hormones and Behavior*. 58: 575-581.

Lucio R. A. y Tlachi-López J. L. 2008. Análisis de la cópula y el eyaculado de la rata albina (*Rattus norvegicus*). *Manual de Laboratorio*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. CONACYT. Editorial Góngora. México. Pp. 45.

Lucio R. A. y Gutiérrez-Ospina G. 2006. Competencia espermática: los machos también deciden cuando, cuanto y con quién. *Gaceta de Biomédicas*. Órgano Informativo del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. 10: 12-16.

Lucio R. A., Manzo J., Martínez-Gómez M., Sachs B. D. y Pacheco P. 1994. Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. *Physiology & Behavior*. 55: 241-6.

Martan J. y Shepherd B. A. 1976. The role of copulatory plug in reproduction in guinea pig. *Journal of Experimental Zoology*. 196: 79-83.

Matthews M. K. Jr. y Adler N. T. 1978. Systematic interrelationship of mating, vaginal plug position, and sperm transport in the rat. *Physiology & Behavior*. 20: 303-9.

Matthews M. y Adler N. T. 1977. Facilitative and inhibitory influences of reproductive behavior on sperm transport in rats. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*. 91: 727-41.

McClintock M. K., Anisko J. J. y Adler N. T. 1982. Group mating among Norway rat. II. The social dynamics of copulation: Competition, cooperation, and mate choice. *Animal Behaviour*. 30: 410-425.

McClintock M. K. y Anisko J. J. 1982. Group mating among Norway rat. I. Sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation. *Animal Behaviour*. 30: 398-409.

McKenna K. E. y Nadelhaft I. 1986. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *The Journal of Comparative Neurology*. 248: 532-549.

McKenna K. E., Chung S. K. y McVary K. T. 1991. A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *American Journal of Physiology*. 261: 1276-1285.

Menge A. C. y Beitner O. 1989. Interrelationship among semen characteristics, antisperm antibodies, and cervical mucus penetration assays in infertile human couples. *Fertility and Sterility*. 51: 486-492.

Moller A. P. 1989. Ejaculate quality, testis size and sperm production in mammals. *Functional Ecology*. 3: 91-96.

- Moller A. P. 1998. Ejaculate quality, testes size and sperm competition in primates. *Journal of Human Evolution*. 17: 479-488.
- Moller A. P. y Birkhead T. R. 1989. Copulation behavior in mammals: evidence that sperm competition is widespread. *Biological Journal of the Linnean Society*. 38: 119-131.
- Moore C. L. 1984. Maternal contribution to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology*. 17: 347-356.
- Moore C. L., Dou H, y Juraska J. M. 1992. Maternal stimulation affects the number of motor neurons in a sexually dimorphic nucleus of the lumbar spinal cord. *Brain Research*. 572: 52-6.
- Mungan N. A., Mungan G., Basar M. M., Baykam M. y Atan A. 2001. Effect of seminal plasma calcitonin levels on sperm motility. *Archives of Andrology*. 47: 113-117.
- Olivier B., Chan J. S. W., Pattij T., de Jong T. R., Oosting R. S., Veening J. G. y Waldinger M. D. 2006. Psychopharmacology of male rat sexual behavior: modeling human sexual dysfunctions? *International Journal of Impotence Research*. 18: S14-S23.
- Paglietti E., Quarantotti B. P., Mereu G. y Gessa G. L. 1978. Apomorphine and L-DOPA lower ejaculation threshold in the male rat. *Physiology & Behavior*. 20:559-62.
- Paredes R. G. y Vázquez B. 1999. What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research* 105. 117-127
- Parker G. A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biology Reviews*. 45: 525-567.
- Parker G. A. 1982. Why are there so many tiny sperm? Sperm competition and the maintenance of two sexes. *Journal of Theoretical Biology*. 96: 281-94.
- Parker G. A. 1984. Sperm competition and the evolution of animal mating strategies. En: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems*. RL Smith (Eds.). Academic Press, London. Pp. 1-60.
- Parker G. A. 1990a. Sperm Competition Games: Raffles and Roles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 242: 120-126.
- Parker G. A. 1990b. Sperm Competition Games: Sneaks and Extra-Pair Copulations. *Proceedings of the Royal Society of London*. 242: 127-133.
- Parker G. A. 2000. Sperm competition games between related males. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 267: 1027-32.

Parker G. A. y Begon M. E. 1993. Sperm competition games: sperm size and number under gametic control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*. 253: 255-62.

Parker G. A. y Maynard-Smith J. 1990. Optionality theory in evolutionary biology. *Nature*. 348: 27-33.

Parker G. A. y Pizzari T. 2010. Sperm competition and ejaculate economics. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 85: 897-934.

Parker G. A., Ball M. A., Stockley P. y Gage M. J. 1997. Sperm competition games: a prospective analysis of risk assessment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science*. 264: 1793-802.

Pattij T., de Jong T. R., Uitterdijk A., Waldinger M. D., Veening J. G., Cools A. R., van der Graaf P. H. y Olivier B. 2005. Individual differences in male rat ejaculatory behaviour: searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*. 22: 724-34.

Poiani A. 2006. Complexity of seminal fluid: a review. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 60: 289-310.

Portillo W., Díaz N. F., Cabrera E. A., Fernández-Guasti A y Paredes R. G. 2006. Comparative analysis of immunoreactive cells for androgen receptors and oestrogen receptor alpha in copulating and non-copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*. 18: 168-76.

Pound N. y Gage M. J. G. 2004. Prudent sperm allocation in Norway rats, *Rattus norvegicus*: a mammalian model of adaptive ejaculate adjustment. *Animal Behaviour*. 68: 819-823.

Pound N., Javed M. H., Ruberto C., Shaikh M. A. y Del Valle A. P. 2002. Duration of sexual arousal predicts semen parameters for masturbatory ejaculates. *Behavior & Physiology*. 76: 685-689.

Pukazhenthil B. S., Neubauer K., Jewgenow K., Howard J. G. y Wildt D. E. 2006. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. *Theriogenology*. 66: 112-121.

Raijmakers M. T. M., Roelofs H. M. J., Steegers E. A. P., Steegers-Theunissen R. P. M., Mulder T. P. J., Knapen-Marten F. C. M., Wong W. Y. y Peters W. H. M. 2003. Glutathione and glutathione S-transferases A1-1 and P1-1 in seminal plasma may play a role in protecting oxidative damage to spermatozoa. *Fertility and Sterility*. 79: 169-172.

Ramm S. A. y Stockley P. 2007. Ejaculate allocation under varying sperm competition risk in the house mouse, *Mus musculus domesticus*. *Behavioral Ecology*. 18: 491-495.

Ramm S. A., Parker G. A. y Stockley P. 2005. Sperm competition and the evolution of male reproductive anatomy in rodents. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 272: 949-55.

Rosenzweig M. R., Leiman A. L. y Breedlove S. M. 2001. *Psicología biológica: una introducción a la neurociencia conductual, cognitiva y clínica*. Ariel neurociencia, Barcelona, España. Pp. 427-472.

Rowland D. L. 1998. Penile sensitivity in men: a composite of recent findings. *Urology*. 52: 1101-1105.

Rowland D. L., Keeney C. y Slob A. K. 2004. Sexual response in men with inhibited or retarded ejaculation. *International Journal of Impotence Research*. 16: 270-274.

Sachs B. D. 1982. Role of striated penile muscles in penile reflexes, copulation, and induction of pregnancy in the rat. *Journal of Reproduction and Fertility J*. 66: 433-443.

Sachs B. D. y Meisel R. L. 1988. The physiology of male sexual behavior. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E y Neil JD (Eds). Editorial Raven Press, New York. Pp. 1393-1485.

Sanada S. y Yoshida O. 1985. Zinc concentrations and total amount of zinc in seminal plasma of infertile men with special references to prostatic secretory function. *Hinyokika Kyo*. 31: 1971-1987.

Schoeneck C., Braun J. y Einspanier R. 1996. Sperm viability is influenced in vitro by the bovine seminal protein aSFP: Effects on motility, mitochondrial activity and lipid peroxidation. *Theriogenology*. 45: 633-642.

Schroder H. D. 1980. Organization of the motoneurons innervating the pelvic muscles of the male rat. *Journal of Comparative Neurology*. 192: 567-568.

Scott M. A. 2000. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. *Anim Reprod Sci*. 60-61: 337-348.

Senger P. L. 1997. *Pathways to pregnancy and parturition*. Current conceptions Inc. Pullman.

Setchell B. P., Maddocks S. y Brooks D. E. 1994. Anatomy, vasculature, innervations, and fluids of the male reproductive tract. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E y Neil JD (Eds). Editorial Raven Press, New York. Pp. 1063-1175.

Short R. V. 1979. Sexual selection and its component parts, somatic and genital selection, as illustrated by man and the great apes. *Advances in the Study of Behavior*. 9: 131-158.

Smuts B. B., Cheney D. L., Seyfarth R. M., Wrangham R. W. y Struhsaker T. T. 1987. Primate societies. The University of Chicago Press. Chicago.

Stockley P. y Preston B. T. 2004. Sperm competition and diversity in rodent copulatory behaviour. *Journal of Evolutionary Biology*. 17: 1048-57.

Suárez S. S. y Osman R. A. 1987. Initiation of hyperactivated flagellar bending in mouse sperm within the female reproductive tract. *Biology of Reproduction*. 36: 1191-1198.

Suárez S. S., Drost M., Redfern K. y Gottlieb W. 1990. Sperm motility in the oviduct. En: Bavister BD, Cummins J, Roldan ERS (Eds.). *Fertilization in mammals*. Norwell: Serono Symposia. Pp. 111-124.

Tagliamonte A., Fratta W., Del Fiacco M. y Gessa G. L. 1974. Possible stimulatory role of brain dopamine in the copulatory behavior of male rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2: 257-60.

Usselman M. C. y Cone R. A. 1983. Rat sperm are mechanically immobilized in the caudal epididymis by “immobilin”, a high molecular weight glyco-protein. *Biology of Reproduction*. 29: 1241-1253.

Voss R. S. 1979. Male accessory glands and the evolution of copulatory plugs in rodents. *Occasional Papers University of Michigan Museum of Zoology*. 689: 1-27.

Waldinger M. D. 2003. Towards evidence-based drug treatment research on premature ejaculation: a critical evaluation of methodology. *International Journal of Impotence Research*. 15: 309-13.

Waldinger M. D. y Olivier B. 2005. Animal models of premature and retarded ejaculation. *The World Journal of Urology*. 23: 115-8.

Waldinger M. D., Quinn P., Dilleen M., Mundayat R., Schweitzer D. H. y Boolell M. 2005. A multi-national population survey of intravaginal ejaculation latency time. *The Journal of Sexual Medicine*. 2: 492-497.

Wedell N., Gage J. G. M. y Parker G. A. 2002. Sperm competition, male prudence and sperm-limited females. *Trends in ecology and evolution*. 17: 313-320.

Wennemuth G., Meinhardt A., Mallidis C., Albrecht M., Krause W., Renneberg H. y Aumüller G. 2001. Assessment of fibronectin as a potential new clinical tool in andrology. *Andrologia*. 33: 43-46.

Wilcox A. J., Weinberg C. R. y Baird D. D. 1995. Timing of sexual intercourse in relation to ovulation –effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby. *The New England Journal of Medicine*. 333: 1517-1521.

Zajonc R. B. 1965. Social facilitation. *Science*. 149: 269-74.

## **11. PUBLICACIONES**

### **11.1 Congresos nacionales**



SMCF

# LIV CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

## 2011

### PROGRAMA



DEL 10 AL 14 DE SEPTIEMBRE  
LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO

## CARACTERÍSTICAS DE LA CÓPULA Y EL EYACULADO EN PRESENCIA DE UN RIVAL: DIFERENCIAS ENTRE MONOANDRIA Y BIANDRIA EN RATA.

Fuentes-Morales MR1, Pichardo Cruz AI2, Gutiérrez-Ospina G3 y Lucio RA4.

1Maestría en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. 2Doctorado en Ciencias de la Producción y la Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. 3Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México. 4Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Los mamíferos machos modifican la cantidad del eyaculado dependiendo de las circunstancias del apareamiento; si detectan que la hembra con la que copulan se apareó previamente con otro macho expelen más semen, si son más de dos, lo disminuyen. Los mecanismos fisiológicos que subyacen a esta habilidad son poco claros. El presente estudio pretende inferir los componentes fisiológicos que controlan la eyaculación optimizada a través de estudiar las modificaciones del patrón copulatorio y de los elementos bioquímicos que intervienen utilizando como modelo a la rata (*Rattus norvegicus*). En nuestros experimentos utilizamos machos seleccionados como copuladores con base en su desempeño durante seis pruebas de entrenamiento copulatorio. Éstas permitieron dividir a los machos como copuladores de latencia de eyaculación corta (LEC; 100-500 s) o larga (LEL; 501-1100 s). En contextos monándricos, ambos grupos mantuvieron los valores de los parámetros copulatorios observados durante el entrenamiento. La concentración espermática ( $35.8 \pm 18.57$  millones/ml), el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva ( $80.5 \pm 6$ ), el peso del tapón seminal ( $103 \pm 16.26$  mg) y el tamaño del mismo ( $9.3 \pm 1.33$  x  $5.1 \pm 0.54$  mm de largo y ancho, respectivamente) fueron equivalentes en ambos grupos. En contraste, la concentración de serotonina epididimaria en machos LEC y LEL fue de  $0.40 \pm 0.30$  y  $0.199 \pm 0.06$  ng/mg de tejido, respectivamente. Cuando ambos grupos fueron probados en contextos copulatorios biándricos, los machos LEC mantuvieron los valores de sus parámetros copulatorios semejantes a los observados en las pruebas de entrenamiento, si bien aumentaron la concentración espermática ( $74.7 \pm 27.58$  millones/ml), disminuyeron el porcentaje de

espermatozoides móviles (0.6%), y mantuvieron el peso ( $84.3 \pm 4.5$  mg) y el tamaño del tapón seminal ( $10.6 \pm 1.04$  x  $5.1 \pm 0.30$  mm de largo y ancho, respectivamente). En contraste los machos LEL en contextos biándricos disminuyeron el número de montas e intromisiones y la latencia de eyaculación, sus eyaculados no contuvieron espermatozoides a pesar de la presencia de tapón seminal de peso y dimensiones semejantes a los elaborados por los machos LEC. Finalmente, la concentración de serotonina epididimaria para los machos de LEC y LEL fue de  $0.261 \pm 0.135$  y  $0.211 \pm 0.101$  ng/mg de tejido, respectivamente. Nuestros resultados sugieren que la capacidad de las ratas macho para ajustar sus parámetros copulatorios en contextos biándricos depende en parte de su fenotipo copulatorio. Aquellos individuos que poseen una latencia de eyaculación más larga mostraron mayor capacidad de ajuste. Este ajuste, sin embargo, no parece favorecer las posibilidades de estos machos para lograr la fertilización del óvulo pues no se acompaña de la expulsión de espermatozoides. Los datos también sugieren que en machos LEC, las características del eyaculado no dependen de los parámetros copulatorios, pues aunque estos últimos no se modifican al compararse entre contextos mono y biándricos, los del eyaculado, en particular la movilidad espermática disminuye. Finalmente, las concentraciones de serotonina epididimaria parecerían cambiar sólo en los machos LEC. Financiado por PAPIIT, DGAPA, UNAM.

# XXXVII Reunión Anual



## Academia de Investigación en Biología de la Reproducción A.C .

“Brain activity during sexual response and orgasm:  
fMRI evidence in humans”  
Dr. Barry Komisaruk  
Rutgers University

“Deficiencia de andrógenos: Hechos y Realidades”  
Dra. Mercedes Perusquía  
Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM

“Efecto de los anticonceptivos orales en el daño  
hepático: Papel de las citocinas”  
Dr. Eduardo Fernández Martínez  
Instituto de Ciencias de la Salud UAEH

“Regulación de las funciones de los ovarios”  
Dr. Roberto Domínguez-Casalá  
FES-Zaragoza UNAM

Curso: Desarrollo de nuevos fármacos tocolítics  
Organizador: Dr. Héctor Ponce  
UAEH



Universidad Veracruzana

**27-30 de Junio**  
**Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo**

EL FENOTIPO COPULATORIO Y EL EYACULADO SE MODIFICAN DURANTE LA COMPETENCIA ENTRE MACHOS. *Maria Reyna Fuentes-Morales*<sup>1</sup>, *Ana Ingrid Pichardo Cruz*<sup>2</sup>, *Gabriel Gutiérrez-Ospina*<sup>3</sup> y *Rosa Angélica Lucio*<sup>4</sup>. <sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, <sup>2</sup>Doctorado en Ciencias de la Producción y Salud Animal, UNAM, <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM y <sup>4</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala (avalado por la Dra. Rosa Angélica Lucio).

El modelo teórico de competencia espermática (Parker 1970) establece que los machos ajustan el número de espermatozoides expelidos, *i.e.* mayor cantidad cuando existe un rival; menor, cuando el número de rivales aumenta. Es posible que en el reparto espermático esté involucrada la serotonina epididimaria, dado que en órganos tubulares como el vaso deferente, esta amina, regula su lumen. Además, existe evidencia de que el epidídimo cuenta con la TPH y receptores-transportadores serotoninérgicos. Cabe recordar que en el epidídimo se almacenan los espermatozoides antes de ser expelidos durante la eyaculación. La eyaculación es un proceso que depende de la adecuada ejecución de los patrones motores copulatorios. El modelo teórico no considera el impacto que el enfrentamiento intrasexual tiene sobre la expresión de la conducta copulatoria. Se sabe que las ratas macho presentan distintos fenotipos copulatorios dependiendo de su latencia eyaculatoria, siendo el 10% rápidos y lentos y el 80% normales. En el presente estudio sólo se utilizaron machos de fenotipo copulatorio rápido, los que durante el entrenamiento eyacularon a los  $354 \pm 31.51$  segundos (s). Los parámetros copulatorios, del eyaculado y la concentración de serotonina epididimaria se evaluaron en contexto biándrico (n=6), siendo el monándrico el control (n=7). Se observó que mantuvieron su latencia de eyaculación durante la monandria ( $376 \pm 39.87$  s,  $p=0.688$ ); en biandria, la disminuyeron significativamente ( $191 \pm 26.32$  s,  $p=0.001$ ), incrementando la cuenta espermática ( $91.08 \pm 15.06$  vs  $38.4 \pm 6.79$  millones en monandria,  $p=0.014$ ). Sorprendentemente, sólo 0.05% de los espermatozoides presentó movilidad en biandria vs el 80% en monandria. No hubo diferencia en la concentración de serotonina epididimaria ( $0.2849 \pm 0.04$  en biandria vs  $0.3851 \pm 0.12$  ng/mg de tejido, en monandria,  $p=0.931$ ). Entonces los machos de fenotipo copulatorio rápido al enfrentarse entre sí, son capaces de disminuir aún más su latencia eyaculatoria e incrementar la cuenta espermática, que resulta independiente de la serotonina epididimaria. Así, los machos que eyaculan rápido son rivales eficaces porque a) eyaculan más veces impidiendo a otros copular, y b) expelen mayor número de espermatozoides dificultando el transporte espermático *in utero*, disminuyendo así, la capacidad fértil de ambos. Parker 1970, Biol Rev 45:525-567. CONACYT Proyecto 105502 (RAL), beca 248124 (MRFM) y DGAPA-PAPIIT-UNAM Proyecto IN215208 (GGO).

## **11.2 Congresos internacionales**



curso  
internacional

bases biológicas  
de la conducta

6 al 9 de octubre de 2010, Tlaxcala, Tlax.



**PROGRAMA**

## **“Efecto de la Monoandria, Biandria y Poliandria sobre la Cópula, Eyaculado y Serotonina Epididimaria en la Rata”**

Maria Reyna Fuentes-Morales<sup>1</sup>, Gabriel Gutiérrez-Ospina<sup>2</sup> y Rosa Angélica Lucio<sup>3</sup>

1 Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala

2 Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

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

[marey\\_fm@hotmail.com](mailto:marey_fm@hotmail.com) Cel. 22 25 68 60 79.

Las hembras de muchas especies animales se aparean con diferentes parejas en un mismo periodo reproductivo. Esta situación se piensa conduce a la competencia entre machos no solo a nivel conductual sino a nivel espermático. En los mamíferos, particularmente en los roedores, se ha observado que los machos son capaces de optimizar la cantidad de espermatozoides eyaculados en función del riesgo de competencia.

Hasta el momento no se conocen los mecanismos que subyacen a esta habilidad, ni si el desempeño copulatorio afecta el proceso. Para abordar estos aspectos, planteamos un estrategia basada en el uso de la rata de laboratorio porque es una especie promiscua, su conducta copulatoria está bien documentada fenomenológica- y fisiológicamente- y las características macro- y microscópicas de su semen y tapón seminal se conocen bien. Por otra parte, estudios previos han mostrado la producción local de serotonina en el epidídimo, órgano responsable de almacenar los espermatozoides antes de ser expelidos durante la eyaculación. Adicionalmente, se ha determinado que la concentración epididimaria de serotonina incrementa desde la pubertad hasta alcanzar la madurez sexual, y que es mayor en machos activos sexualmente *versus* los inactivos. La serotonina en los órganos tubulares en los que se ha descrito, como el vaso deferente, regula el lumen del mismo. Dado que los roedores machos son capaces de optimizar su eyaculado en función de la competencia, consideramos que la serotonina podría regular la luz epididimaria y con ello, la cantidad de espermatozoides a ser expelidos.

La metodología consistirá en utilizar ratas Wistar sexualmente maduras, machos con experiencia sexual y hembras ovariectomizadas con estro inducido. Se mantendrán en condiciones estándar de bioterio. Se les proporcionará agua y alimento *ad libitum*. Consideraremos tres contextos copulatorios: monoandria (1 macho, 1 hembra), biandria (2 machos, 1 hembra) y poliandria (4 machos, 1 hembra). En cada uno de ellos, analizaremos el desempeño copulatorio y las características del semen y del tapón seminal del primer macho que eyacule. Cada contexto copulatorio será analizado durante 5 pruebas utilizando a los mismos machos por contexto; y sólo al finalizar la quinta prueba se sacrificarán a los machos para determinar la concentración de serotonina epididimaria (Fig. 1). Dado que las pruebas terminarán cuando eyacule el primer macho en cada contexto, este esquema se repetirá en 6 ocasiones para contar con 6 sujetos en situación mono-, bi- y poliándrica.

**Desempeño copulatorio.** Se utilizará un redondel en el que se introducirá al macho (s) y después de 5 min de habituación, se colocará una hembra. Inmediatamente, se observarán y registrarán los parámetros copulatorios: Latencia de monta, tiempo que transcurre desde la colocación de la hembra dentro del redondel hasta que ocurre la primera monta. Latencia de intromisión, tiempo que transcurre desde la colocación de la hembra dentro del redondel hasta que ocurre la primera intromisión. Latencia de eyaculación, tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación. Número de montas (NM), número de veces que se presenta este patrón Número de intromisiones (NI), número de veces que se presenta este patrón por serie eyaculatoria. Se calculará el Índice de intromisión ( $NI/NI+NM$ ).

**Características del semen y tapón seminal.** La hembra inseminada en cada contexto copulatorio será anestesiada 5 minutos después de haber ocurrido la eyaculación. Se obtendrá el semen de los cuernos uterinos y el tapón de la vagina. Se analizarán los parámetros del eyaculado: Concentración espermática, número de espermatozoides expresados en millones/mililitro. Para el tapón seminal: Peso, masa

expresada en miligramos. Tamaño (largo y ancho), es la medida del largo y ancho expresada en milímetros. Volumen, es la medida del espacio que ocupa expresada en milímetros cúbicos. Se obtiene de multiplicar el largo  $\times 3.1416 \times \text{radio}^2/3$ . El radio es la mitad del ancho del tapón seminal.

**Concentración de serotonina epididimaria.** Los machos serán anestesiados para extraerles los epidídimos. La concentración de serotonina se determinará mediante la prueba de ELISA.

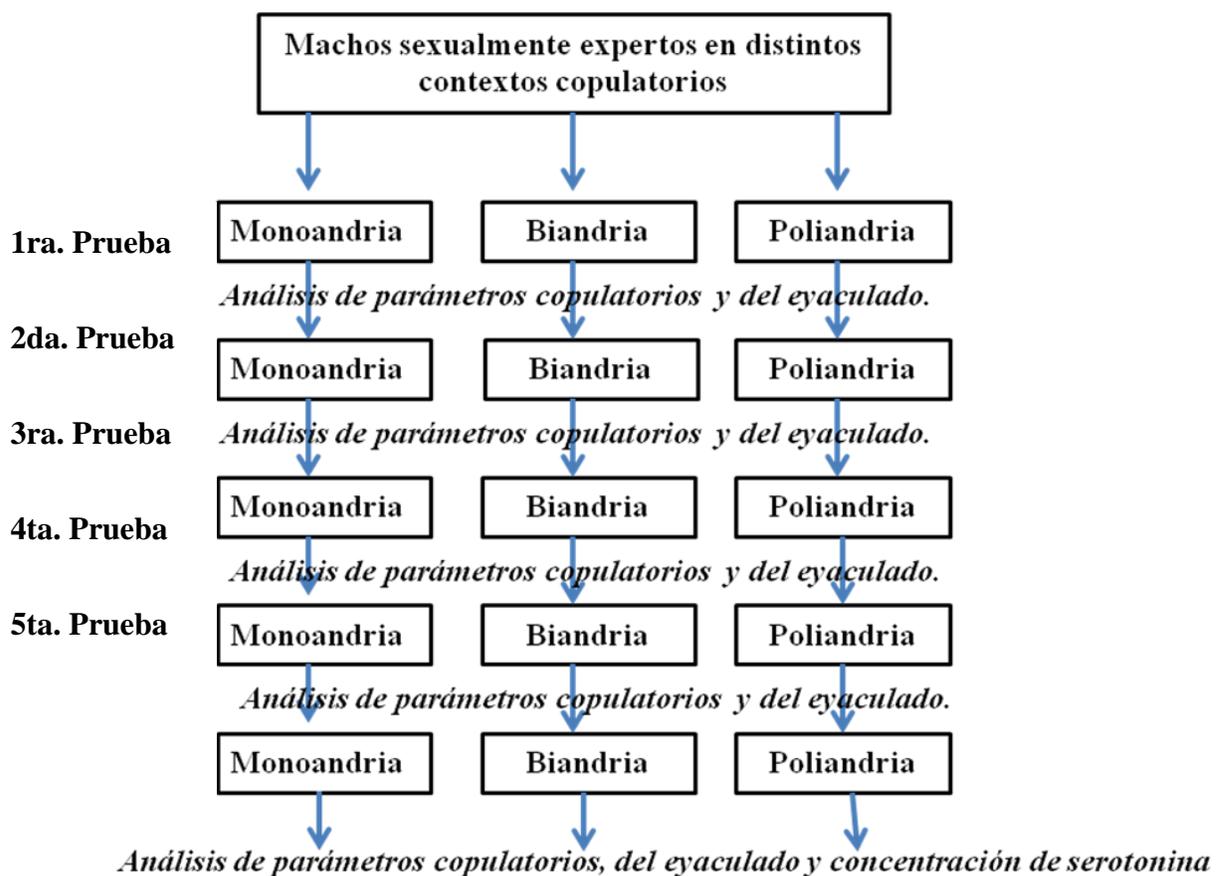


Fig. 1 Esquema experimental: muestra los contextos copulatorios monoándrico (1 macho, 1 hembra), biándrico (2 machos, 1 hembra) y poliándrico (4 machos, 1 hembra), con los parámetros a analizar (copulatorios y del eyaculado). Se realizarán 5 pruebas y sólo al final del experimento se evaluará la concentración de serotonina epididimaria.

El presente estudio nos ayudará a entender algunas estrategias reproductivas (conductuales y fisiológicas) de la rata macho ante la presencia de rivales



dieciseisavo  
curso  
internacional  
bases biológicas  
de la conducta

19 al 22 de octubre de 2011, Tlaxcala, Tlax.

## **Biandria y eyaculación: latencia, cuenta y movilidad espermáticas. El papel de la serotonina periférica**

Maria Reyna Fuentes Morales<sup>1</sup>, Ana Ingrid Pichardo Cruz<sup>2</sup>, Gabriel Gutiérrez Ospina<sup>3</sup> y Rosa Angélica Lucio<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala; <sup>2</sup>Doctorado en Ciencias de la Producción y la Salud Animal, UNAM; <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM; <sup>4</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala

marey\_fm@hotmail.com Cel. 246 101 06 43

Diferentes habilidades reproductivas garantizan a los machos afrontar la rivalidad por las hembras que se aparean con más de uno, en el mismo periodo reproductivo. Ejemplo de ello, es el acortamiento de la latencia de eyaculación en la rata macho debido a la presencia de un rival. La competencia entre los machos no sólo es copulatoria, sino también espermática, dado que se incrementa el número de espermatozoides expelidos. Cabe mencionar que la serotonina inhibe el incremento de la presión intraluminal del vaso deferente, probablemente para que ocurra el transporte de los espermatozoides hacia la uretra antes de ser expelidos. Nuestro grupo determinó que los machos que despliegan el repertorio copulatorio completo tienen mayor concentración de serotonina epididimaria que los machos que no lo presentan; además, que a mayor concentración, más grande es la camada.

Los hallazgos anteriores se han obtenido de manera independiente uno de otro. Se ha dejado al margen el papel de la serotonina que se produce en el epidídimo, donde los espermatozoides se alojan antes de ser expelidos. Por lo que

sería propicio considerar un enfoque integral. Así, el presente trabajo pretende determinar los cambios en los parámetros copulatorios y seminales. Así como cuantificar la serotonina epididimaria en ratas macho durante encuentros biándricos.

En el estudio aún en desarrollo, se utilizan ratas Wistar, machos sexualmente expertos y hembras ovariectomizadas con estro inducido, mediante estradiol y progesterona; mantenidas en condiciones estándares de bioterio. Los machos con experiencia sexual son seleccionados con base en su desempeño durante seis pruebas de entrenamiento copulatorio. Los machos que no eyaculan, en al menos cuatro de ellas, son eliminados. Las latencias de eyaculación (LE) que presentan oscilan entre los 300 segundos y los 700 segundos. Los machos con ambas duraciones en su LE se destinan tanto a la competencia biándrica como al grupo control (sin competencia, por ser monoándrico). Analizamos los parámetros copulatorios (número de montas e intromisiones y latencias de monta, intromisión y eyaculación) y del eyaculado (cuenta y movilidad espermáticas; peso, tamaño y volumen del tapón seminal). La prueba copulatoria termina cuando eyacula el primer macho en competencia biándrica y cuando ocurre la eyaculación sin competencia en monoandria. Una vez ocurrida la eyaculación, la hembra inseminada es anestesiada 5 minutos después para obtener el semen del útero y el tapón seminal de la vagina. Al finalizar las pruebas, los machos son sacrificados para determinar la concentración de serotonina epididimaria mediante la técnica de ELISA.

Los enfrentamientos resultan entre machos de: a) LE 300 *vs* 700 segundos, b) LE 700 *vs* 700 segundos y c) 300 *vs* 300 segundos. Encontramos para el caso (a) que el macho que eyacula es el de menor LE y mantiene la duración de su latencia. Para el caso (b) el macho que eyacula acorta drásticamente su LE. A pesar de desplegar el patrón eyaculatorio no hay espermatozoides aunque si tapón seminal. Para el caso (c), el macho que eyacula mantiene su LE. Sólo la LE es el único parámetro copulatorio que tiene una diferencia significativa entre la biandria y el control

(mediana=251 segundos *vs* mediana=352 segundos, respectivamente;  $U=0$ ,  $p=0.029$ ). Respecto a los parámetros seminales, la cuenta espermática incrementa significativamente en la biandria *vs* el control (mediana= $98.5 \times 10^6$  *vs* mediana= $27.9 \times 10^6$ , respectivamente;  $U=0$ ,  $p=0.029$ ). Sin embargo, la movilidad progresiva de los espermatozoides disminuye significativamente (mediana=0% *vs* mediana=84%;  $U=0$ ,  $p=0.029$ ). Además, la correlación de Pearson es positiva entre la cuenta espermática con el número de intromisiones y con la LE. También se obtiene correlación positiva entre la concentración espermática con la concentración de serotonina epididimaria.

Hasta ahora tenemos que la presencia de un rival mantiene o reduce la LE dependiendo del fenotipo copulatorio del macho (LE menor, LE mayor). El macho con LE menor incrementa su cuenta espermática aunque ineficazmente ya que sus espermatozoides no presentan movilidad progresiva. Es sorprendente el efecto sobre la movilidad espermática, seguramente es temporal y dependerá de la hembra. Habrá que analizar la movilidad espermática en diferentes tiempos. El macho con LE mayor aunque “eyacula” no expelle espermatozoides aunque si tapón seminal. Esto muestra que el patrón motor de eyaculación, no necesariamente se acompaña de la expulsión de las secreciones de las glándulas sexuales accesorias y espermatozoides. Más aún, que la emisión seminal, fase previa a la expulsión seminal es regulada no sólo por los procesos nerviosos ya conocidos, sino que otros periféricos la modulan. Así, la serotonina epididimaria podría estar involucrada en el transporte espermático desde la cauda epididimaria hasta la uretra. Transporte que pudiera ocurrir o no, o bien transporte que pudiera ser mayor o menor dependiendo de las circunstancias de la cópula. De esta manera podrían expelerse o no espermatozoides o bien expeler muchos o pocos.

Financiamiento: DGAPA-PAPIIT-UNAM Proyecto IN215208 (GGO-RAL); CONACYT Proyecto 105502 (RAL) y Beca 248124 (MRFM).



curso internacional  
bases biológicas de la conducta

3 al 6 de octubre de 2012, Tlaxcala, Tlax.

# PROGRAMA



## Plasticidad Fenotípica y Variaciones del Eyaculado: Resultados Insospechados de la Competencia Espermática

Maria Reyna Fuentes-Morales<sup>1</sup>, Ana Ingrid Pichardo Cruz<sup>2</sup>, Gabriel Gutiérrez-Ospina<sup>3</sup> y Rosa Angélica Lucio<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, <sup>2</sup>Doctorado en Ciencias de la Producción y Salud Animal, UNAM, <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM y <sup>4</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

La competencia espermática es una fuerza selectiva muy importante que ha modulado la fisiología, morfología y comportamiento de los organismos. Los modelos teóricos sobre competencia espermática predicen que los machos expuestos a mayor riesgo de afrontarla incrementan, hasta cierto límite, la cantidad de espermatozoides eyaculados (Parker 1970, 1982). Si bien esta concepción ha sido comprobada empíricamente en diversas especies, aún no se ha considerado en ella la existencia de los diferentes **fenotipos copulatorios** que se presentan en las poblaciones de machos de la misma especie. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el impacto del fenotipo copulatorio sobre la expresión de la conducta copulatoria y la deposición espermática en machos sometidos a dos contextos de competencia sexual. Utilizamos ratas de la cepa Wistar; machos sexualmente expertos y hembras receptoras ovariectomizadas. Los machos fueron sometidos a 4-6 pruebas copulatorias monándricas para conocer su fenotipo. A los que eyacularon en promedio a los 302.37±41.41 segundos (s) durante sus pruebas copulatorias se les clasificó como machos de fenotipo rápido, mientras que los que eyacularon a los 842.91±81.75 s se les consideró como machos de fenotipo normal. Posteriormente, los animales fueron enfrentados durante encuentros copulatorios biándricos siguiendo el siguiente formato: **a) rápido vs rápido, b) normal vs normal y c) rápido vs normal**. El

desempeño de los machos bajo condiciones de monandria fue considerado como el valor de referencia por animal y grupo. Para cada caso se evaluaron los parámetros copulatorios (número de montas e intromisiones y las latencias de monta, intromisión y eyaculación) y los parámetros del eyaculado (semen: color, viscosidad, pH, volumen y movilidad, concentración, viabilidad y morfología espermáticas; tapón seminal: peso, largo, ancho y volumen). En biandria, se consideraron los datos del macho que eyaculó. Obtuvimos que de un total de 50 ratas, 15 machos mostraron el fenotipo rápido, 16 el normal y 15 no copularon. Observamos que en el caso **a)**, las ratas que eyacularon: **1) disminuyeron** significativamente el número de **montas** ( $2.6 \pm 0.6$  vs  $6.7 \pm 1.5$ ,  $U=13.5$   $p=0.03$ ) e **intromisiones** ( $7.1 \pm 0.3$  vs  $9.7 \pm 0.9$ ,  $U=11$   $p=0.01$ ), **latencia de eyaculación** ( $146.3 \pm 14.7$  vs  $376 \pm 39.87$ ,  $U=0$   $p=0.01$ ) e **intervalo interintromisión** ( $20.4 \pm 1.6$  vs  $42.4 \pm 8.1$ ,  $U=5$   $p=0.004$ ) comparados con los machos del grupo control. Estas ratas **incrementaron** la **viscosidad** del fluido seminal (80% de los machos) y la **cuenta espermática** ( $110.9 \times 10^6 \pm 15.3$  vs  $38.3 \times 10^6 \pm 6.7$ ,  $U=6$   $p=0.005$ ) y **disminuyeron el volumen** del fluido seminal (80% de los machos) y el **porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva** (0.05% vs 76.8%) respecto al grupo control. Para el caso **b)** encontramos que los machos **redujeron** significativamente su **latencia de eyaculación** durante la biandria con relación al control ( $401.7 \pm 35.7$  vs  $741.2 \pm 142.6$ ,  $U=7$   $p=0.03$ ), e **incrementaron el volumen** y **disminuyeron la viscosidad** del fluido seminal (46.2% de los machos). El resto de los machos mostró parámetros normales (38.5%) y sólo el 15.3% de los machos mostraron viscosidad aumentada y volumen disminuido. Por último, en el caso **c)**, nos percatamos que los machos que ganaron el enfrentamiento fueron los de fenotipo rápido y encontramos que estos machos **no modificaron** ninguno de sus **parámetros copulatorios**. Además, estos machos **incrementaron la viscosidad seminal** (42.8% de los machos) y la **cuenta espermática** ( $85.7 \times 10^6 \pm 8.9$  vs  $38.3 \times 10^6 \pm 6.7$ ,  $U=1$   $p=0.001$ ) y **disminuyeron el volumen** del fluido seminal (42.8% de los machos) y la **movilidad espermática progresiva** (20% vs 76.8%) comparados con el control. Los resultados muestran que durante el

enfrentamiento entre machos del mismo fenotipo (rápido *vs* rápido, normal *vs* normal), se acorta la latencia de eyaculación. Mientras que en el enfrentamiento entre machos de diferente fenotipo (rápido *vs* normal) ganaron los rápidos sin modificar sus parámetros copulatorios. Esto podría deberse a que los machos rápidos no consideran como rivales a los machos de fenotipo normal. Se sabe que los machos utilizan señales (olfativas, táctiles, auditivas) que les indican el riesgo de competencia. Entonces, es probable que identifiquen el fenotipo del rival y ajusten su conducta copulatoria. Los machos de fenotipo normal fueron los que presentaron mayor plasticidad durante la competencia, lo que quizás les confiere más ventajas reproductivas. Algunos modelos teóricos, como el de competencia espermática, predicen el resultado de una interacción biológica bajo determinadas condiciones, sin embargo, no consideran que los organismos presenten diversidad y plasticidad fenotípica como se evidenció en este estudio. Así, sugerimos que los modelos teóricos deben considerar tal evidencia para que las predicciones sean más asertivas. Respecto al eyaculado observamos que los machos de fenotipo rápido incrementaron la viscosidad del fluido seminal y el número espermático y disminuyeron el volumen seminal y el porcentaje de espermatozoides móviles. Por el contrario, en los machos de fenotipo normal, sólo se modificó el volumen y la viscosidad seminal. Así que, los machos de distinto fenotipo también muestran diferencias en los parámetros del eyaculado. Los machos de fenotipo normal, probablemente son mejores competidores espermáticos dado que la concentración y movilidad espermáticas no se afectan por la competencia. El modelo de competencia espermática no considera que otros parámetros del eyaculado, además del número espermático, se puedan modificar, por lo que también sugerimos debería considerar todos los parámetros del eyaculado. Así que, los machos de fenotipo normal al presentar mejor plasticidad fenotípica y mejores características del eyaculado podrían tener mayor éxito reproductivo en condiciones naturales. CONACYT Proyecto 105502 (RAL), beca 248124 (MRFM) y DGAPA-PAPIIT-UNAM Proyecto IN215208 (GGO).

### **11.3 Artículos**



REVIEW [REVISIÓN]

THE PHYSIOLOGY AND ECOPHYSIOLOGY OF EJACULATION

[FISIOLOGÍA Y ECOFISIOLOGÍA DE LA EYACULACIÓN]

R. A. Lucio<sup>1\*</sup>, Y. Cruz<sup>1</sup>, A. I. Pichardo<sup>2</sup>, M. R. Fuentes-Morales<sup>1</sup>,  
A.L. Fuentes-Farias<sup>3</sup>, M. L. Molina-Cerón<sup>2</sup> and G. Gutiérrez-Ospina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala-Puebla km 1.5 s/n, Loma Xicotencatl, 90062, Tlaxcala, Tlax., México.

<sup>2</sup>Depto. Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F., México.

<sup>3</sup>Laboratorio de Ecofisiología Animal, Departamento de Fisiología, Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Av. San Juanito Itzicuaró s/n, Colonia Nueva Esperanza 58337, Morelia, Mich., México

\* Corresponding author

ABSTRACT

Different studies dealing with ejaculation view this process as a part of the male copulatory behavior. Some of them explain ejaculation as the consequence of a neuroendocrine feedback loops or from a purely anatomical perspective. The goal of the present review is to discuss the traditional and novel themes related to the biology of ejaculation. The text begins with the description of the behavioral motor patterns that lead to ejaculation. The anatomo-physiological mechanisms are explained under the notion that ejaculation is more than genitals and an excurrent duct system; thus it is also included the participation of the striated perineal musculature. Although ejaculation is a sexual spinal reflex, it is inhibited tonically by supraspinal structures. Such supraspinal modulation may explain the prudent sperm allocation, by which males adjust the number of sperm per ejaculate while copulating under distinct competitive scenarios. In some mammals, ejaculate components facilitate seminal coagulation, an adaptation that may increase the male reproductive fitness. Finally, there is a reflection of the so-called human ejaculatory disturbances, which from an ecophysiological perspective could represent advantages instead of sexual malfunction as are recognize under the medical view.

**Keywords:** Copulatory behavior; copulatory reflexes; disorders of ejaculation; prudent sperm allocation; seminal characteristics; sexual reflexes; sperm competition; sperm transport.

RESUMEN

Diferentes estudios enfocados en la eyaculación, consideran a este proceso como parte de la conducta copulatoria masculina. Algunos de ellos explican la eyaculación como la consecuencia de una retroalimentación neuroendócrina o desde una perspectiva puramente anatómica. El objetivo de la presente revisión es discutir los temas tradicionales y novedosos relacionados con la biología de la eyaculación. El texto inicia con la descripción de los patrones motores copulatorios que conducen a la eyaculación. Se explican los mecanismos anatómo-fisiológicos considerando que la eyaculación es más que genitales y un sistema de ductos excurrentes; entonces también se incluye la participación de la musculatura perineal estriada. Aunque la eyaculación es un reflejo sexual espinal, está inhibido tónicamente por estructuras supraespinales. Tal modulación supraespinal puede explicar el reparto espermático conveniente, por el cual los machos ajustan el número de espermatozoides por eyaculado al copular en distintos escenarios competitivos. En algunos mamíferos, los componentes del eyaculado facilitan la coagulación del semen, una adaptación que puede incrementar el éxito reproductivo del macho. Finalmente, se reflexiona sobre los llamados desórdenes eyaculatorios humanos, que desde la perspectiva ecofisiológica podrían representar ventajas en lugar de disfunciones sexuales como son reconocidas desde el punto de vista médico.

**Palabras clave:** Conducta copulatoria; reflejos copulatorios; desórdenes de la eyaculación; reparto espermático conveniente; características seminales; reflejos sexuales; competencia espermática; transporte espermático.

## INTRODUCTION

Ejaculation in mammals is a male sexual function design to inseminate the female. This ephemeral but essential process occurs when the male reaches the ejaculatory threshold during the copulatory encounter. In the present text ejaculation is analyzed in an integrative view, from proximal mechanisms to ultimate explanations. Then ejaculation is considered from a behavioral to ecophysiological perspectives.

### COPULATORY BEHAVIOR: THE EJACULATORY PRELUDE

Male sexual behavior comprises activities aimed at inseminating the female and fertilizing her ova. In general, two components are accepted to constitute this sex behavior. The first component referred to as sexual drive, *libido*, courtship or appetitive aspect involves the behavioral expression used by males to gain access to the female (*e.g.*, fighting for territory, advertising his physical attributes or providing food to females). The second component is known as performance, potency or consummatory aspect, and corresponds when copulation occurs. Males spent much more time and energy seeking for copulation than the actual time and energy used to copulate (Sachs and Meisel, 1988).

#### Copulatory motor patterns and copulatory genital responses

The male copulatory behavior is expressed as motor patterns commonly organized in series of mounts, intromissions and ejaculation. In almost all mammals, the male mounts the female dorsally and from the rear. Males' mounts features pelvic movements (*i.e.*, thrusts) and flank palpation (Sachs and Garinello, 1978). Intromission occurs when the penis enters the vagina following a mount. Penile insertion may entail only a brief genital contact with immediate ejaculation (ungulates; Bermant *et al.*, 1969; Lott, 1981), it may consist of a single long connection (canids; Beach, 1969) or it may be an extended series of brief genital contacts as in before ejaculation is reached (rodents; Larsson, 1956). Ejaculation occurs when the inserted penis into the vagina expel seminal fluid *via* the urethral *meatus*. Ejaculation in male rats is the culmination of vigorous intravaginal pelvic thrusting accompanied by the arching of the male's spine and the lifting of his forepaws off the female prior to withdrawal. After ejaculation, the male dismount is followed by penis auto-grooming (Orbach, 1961; Lucio and Tlachi-López, 2008).

There are two genital responses during copulation, the penile erection that occurs during intromission and the seminal expulsion observed during ejaculation. Because both reflexes are difficult to assess and study

during copulation, an *ex copula* stimulation protocol has been devised in rats. During these tests, erections are elicited by retracting the penile sheath while the male is kept in a supine position (Hart, 1968). The *ex copula* and *in copula* penile erections are similar in physiological terms (Hart, 1968; Holmes *et al.*, 1991). However, the temporal pattern of penile reflexes differs between natural and *ex copula* erections (Hart, 1968). Three gradations of erection can be observed: a) tumescence and elevation of the penile body without glans erection, b) intense erection of the glans "cup" and of the penile body, and c) anteroflexions of the penis due to the straightening of the penile body. During copulation cup formation is necessary for depositing the semen into the vagina, where it coagulates to form a solid seminal plug. Without this plug, much of the semen leaks out of the vagina and pregnancy rarely occurs (Sachs, 1982). These penile responses are present in "neutrally" intact rat males (Dusser de Barenne and Koskoff, 1932; Hart, 1968). Also, penile reflexes may be elicited from spinally transected humans (Zeitlin *et al.*, 1957). This indicates that penile reflexes are organized substantially at the spinal level. Reflexes are, nonetheless, subjected to considerable supra-spinal control (Beach, 1967).

Seminal expulsion refers to the forceful discharge of semen from the prostatic urethra through the urethral *meatus*. Ejaculation is elicited by urethral distention and results from the clonic contraction of the ischiocavernosus and bulbocavernosus muscles in response to the rhythmic firing of the cavernous nerve. This response is called the urethro-genital reflex and it can be observed in rats that have high spinal transection. A cluster of serotonergic neurons in the brain stem is implicated in the descending inhibition of spinal sexual reflexes (Marson and McKenna, 1990). The urethro-genital reflex is used as a model to study penile erection and ejaculation (McKenna *et al.*, 1991).

### EJACULATION: THE MALE'S AIM

Ejaculation is defined as the expulsion of seminal fluid from the urethral *meatus*. It involves coordinated series of reflexes activated during its two phases: emission and expulsion.

Seminal emission refers to the secretion of seminal plasma from the accessory sexual glands as the results of the peristaltic contraction of their smooth muscles; the transferring of seminal plasma and spermatozoa located into the epididymis cauda into the urethra then ensues. Thus, this process involves secretion of seminal plasma from epithelial cells and the accessory sexual glands, as well as contraction of the vas deferens to move seminal plasma and spermatozoa to the proximal urethra. Simultaneously to these parasympathetic and sympathetic actions, the urethral

smooth muscles contract until closing the bladder's neck preventing, under normal circumstances, retrograde ejaculation.

Once emission is completed, the ejaculate is ready to be expelled through the urethra. Seminal expulsion then occurs when the semen is rapidly and forcefully advanced forward along the urethra and spring out through the penile *meatus*. Adequate propulsion of semen requires the coordinated contraction of the external urethral sphincter and the bulbocavernosus, the striated muscles surrounding the urethra. Contraction of other perineal and pelvic muscles adjacent to the base of the penis, such as the ischiocavernosus and pubococcygeus muscles also contribute during seminal expulsion (Shafik *et al.*, 2005). In humans, ejaculation is associated with what has been called orgasm; a subjective pleasurable feeling reported by men. Although we have no certainty of the existence of orgasms in other mammals, there are some studies that suggest that ejaculation of other mammals is also associated with reward (Kippin and Pfau, 2001).

Rats present several accessory glands (seminal vesicles, coagulant glands, prostate and bulbourethral glands) whose secretion constitutes a significant fraction of the expelled semen during the ejaculation. During *ex copula* tests, seminal expulsion occurs occasionally. In anaesthetized animals, however, semen emission and expulsion may be elicited by electrical stimulation of the intermesenteric nerves (Bernabe *et al.*, 2007) or by systemic administration of P-chloroamphetamine, an amphetamine derivative that releases catecholamines and serotonin from monoaminergic nerve terminals (Clement *et al.*, 2006). With regard to the seminal expulsion from the urethra, it has been suggested that the rhythmic contraction of the urethral striated musculature is induced by the activation of the pressure urethral receptors. In agreement with this idea is the fact that increased urethral pressure induced contraction of the ischiocavernosus and bulbocavernosus muscles in man and in rats (McKenna *et al.*, 1991). However, this notion is in conflict with evidence showing the triggering of expulsion in absence of seminal fluids within the prostatic urethra or after urethral anesthesia (Holmes and Sachs, 1991).

#### Ejaculatory structures and ejaculatory reflex

In mammals, the male reproductive organs consist of the penis, two testes, two epididymides, accessory sexual glands with its ducts and the urethra. The penis is a copulatory organ composed of three sections; glans penis, body and root of the penis. The body is made up of three cylindrical bodies of erectile tissue, the paired *corpora cavernosa* and the centrally located *spongiosum* body, each one surrounded by the tunica

*albuginea* (Hsu *et al.*, 2004). The three bodies arise from the root of the penis in which skeletal muscle structures and the tunica *albuginea* completely surround smooth muscle structures; they intermingle with fibrous tissue to form the sinusoids wall (Hsu *et al.*, 2004). The distal portion of the *spongiosum* body is expanded and becomes the glans of the penis, covered by the foreskin.

The testes produce spermatozoa and achieve glandular function secreting male sexual hormones such as testosterone (Setchell *et al.*, 1994). In adulthood the testicles, surrounded by the cremaster, rest into the scrotum. The epididymides are tubular coiled structures in close anatomical relation to the testes tubules. There, spermatozoa are stored and periodically expelled to the deferent duct (Setchell *et al.*, 1994). In primates, each vas deferens is joined by accessory gland ducts to form a common duct, the ejaculatory duct which opens into the urethra.

Accessory sexual glands secrete most of the seminal plasma expelled during ejaculation. Although there is a significant variation between mammals with respect to the range of them, most of the species have prostate and bulbourethral glands (Setchell *et al.*, 1994).

The organs described above are mainly involved in semen storage and production. For the semen to be placed into the female reproductive tract is necessary to count with a propulsion system, strong and fast enough to expel the fluid. The smooth and striated muscle of the urethra fills this requirement.

The urethra achieves urinary and reproductive function. It is an elongated structure whose cranial region connects to the urinary bladder, the medial region transverse the pelvic diaphragm and its distal portion ran along the *corpus spongiosum* of the penis. The urethra is usually divided in four regions: prostatic, membranous, bulbar (*diverticulum* in rats) and *spongiosum* or penile (Ciner *et al.*, 1996). The distal portion of the penile urethra expands to form the external urinary *meatus*. In men the ejaculatory ducts discharge the semen into the prostatic urethra while in other species such as the rat the ducts enter into the dorsal wall of the cranial region of the membranous urethra (Bierinx and Sebille, 2006; Lehtoranta *et al.*, 2006).

Around half of the urethra is surrounded by striated muscles. In rats, the prostatic and membranous regions are surrounded by the external urethral sphincter, a muscle also named rhabdosphincter and the bulbar urethra is surrounded by the bulbocavernosus muscle (Pacheco *et al.*, 2002). Adjacent to the bulbocavernosus muscle is the ischiocavernosus muscle (McKenna and Nadelhaft, 1986). The contraction of these muscles compresses the bulb of

the *corpus spongiosum* and the penile *crura*. In men the external urethral sphincter is mainly composed of circular slow fibers (Gosling *et al.*, 1981). In contrast, in rats most of the fibers are fast twitch (Bierinx and Sebillé, 2006; Lehtoranta *et al.*, 2006). Similarly to man, in rats the rostral fibers of the external urethral sphincter are circular. Other fibers nonetheless run diagonally and longitudinally (Cruz and Downie, 2005; Lehtoranta *et al.*, 2006). This muscular organization suggests that the external urethral sphincter is a complex muscle whose contraction contributes to urethral continence and urine and semen expulsion.

### Spinal and supraspinal control of ejaculation

The precise nature of the afferent stimuli that trigger the process of ejaculation is unknown. It is thought, however, that somatosensory stimulation of genital structures plays a chief role. The knowledge of the neural circuitry controlling the genital tract has been mostly obtained from animal studies.

Although not all the neural pathways controlling ejaculation have been identified, it is currently accepted that seminal emission and expulsion result from the activation of afferent, efferent, somatic, sympathetic and parasympathetic fibers (Clement *et al.*, 2006). Accordingly, axons innervating the penis, foreskin and perineal skin are carried by the sensory branch of the pudendal nerve and proximal and distal perineal nerves (McKenna and Nadelhaft, 1986; Pacheco *et al.*, 1997; Pastelin *et al.*, 2008). Somatic afferents from the urogenital tract enter the spinal cord via L6-S1 dorsal roots (Nadelhaft and Booth, 1984). Disruption of this pathway suppressed induced ejaculation (Clement *et al.*, 2006). The efferent pathways of the ejaculatory reflexes controlling the tone of the smooth muscle are conveyed by hypogastric nerves and sympathetic fibers arising from the lumbar paravertebral sympathetic chain (Nadelhaft and McKenna, 1987; Clement *et al.*, 2006). The sympathetic preganglionic neurons are located in the intermediolateral cell column and the dorsal central autonomic nucleus of the lower thoracic and upper lumbar segments (T13-L2) (Nadelhaft and McKenna, 1987). The postganglionic neurons seem to be located in the major pelvic ganglia, the accessory ganglia and the pelvic plexus (Keast, 2006; Pastelin *et al.*, 2011). The motoneurons of the external urethral sphincter, ischiocavernosus and bulbocavernosus muscles are located in the dorsomedial and dorsolateral nuclei in L6-S1 spinal segments (Marson, 1997; McKenna and Nadelhaft, 1986).

The peripheral and central signals are integrated into the ejaculation center of the spinal cord, referred to as the ejaculation generator or ejaculation spinal pacemaker (Sachs and Garinello, 1979). This

integration allows for a normal ejaculatory reflex as coordinated signals sequentially relayed to the muscles and to structures of the pelvic and perineum enabling them to function in an orchestrated fashion. Because ejaculation can be observed in men and rats with high spinal transection, it has been suggested that the neurons of the ejaculation generator are located in the spinal cord (McKenna *et al.*, 1991). Accordingly, tracing studies suggest that neurons of the spinal ejaculation generator are located in the dorsal gray commissure and lamina X at the L3-S1 (neurons labeled after injecting the prostate) and L5-L6 (neurons labeled after injecting the bulbocavernosus muscle) spinal levels (Marson and Carson, 1999; Tang *et al.*, 1999).

Another group of neurons clearly related to the control of ejaculation has been identified in the central gray of lumbar levels at L3-4, in lamina X and in the medial portion of lamina VII (Truitt and Coolen, 2002). These cells are referred to as lumbar spinothalamic cells (LSt) and are supposed to control ejaculation (Truitt *et al.*, 2003). Lesion of these neurons disrupts the ejaculatory behavior demonstrating that LSt cells are specific components of the ejaculation generator (Truitt and Coolen, 2002).

The spinal ejaculation generator is under excitatory and inhibitory influence of supraspinal sites (Allard *et al.*, 2005). Indeed, stimulation of the hypothalamic medial preoptic area and paraventricular nucleus facilitates ejaculation while the nucleus *paragigantocellularis* of the medulla in the brain stem exerts a powerful inhibitory influence (Marson *et al.*, 1992; Marson and McKenna, 1994). A relay center between the hypothalamus and the ejaculation seems to be located at the periaqueductal gray because lesions of this area block the reflex induced by the stimulation of the medial preoptic area (Marson, 2004).

Finally, the ejaculatory reflex is predominantly controlled by a complex interplay between central serotonergic and dopaminergic neurons with a secondary involvement of cholinergic, adrenergic, nitrenergic, oxytocinergic and GABAergic neurons (Giuliano and Clement, 2005).

### THE ECOLOGY OF EJACULATION: EVERYTHING MAKES SENSE

After finishing reading the preceding sections, the reader may find him/herself wondering on how comes that a few seconds of ultimate pleasure can be so important to define each male's reproductive success. To understand this essential aspect of ejaculation, we must take in consideration the cost of gamete production. Although conventional wisdom suggests that the metabolic cost of producing spermatozoa is

relatively low, recent evidence showing increased longevity following impaired gamete production argues otherwise. In addition, the fact that mating and courtship also are associated with reduced lifespan further support that wasteful sperm expenditure is costly for males (Fisher *et al.*, 2006). Hence, males must devise sexual and reproductive strategies aimed at using prudently their reproductive resources, thus reducing the cost the semen wasting.

#### **Ecological control: Sperm competition and prudent sperm allocation**

For a male to use their reproductive resources cautiously, he must judge a variety of ecological factors that may provide vital information on his possibility of achieving successful paternity. The physical attributes of the female, the likeliness of a female to be a good mother and the magnitude of promiscuity of the female he is pursuing are just few examples of such factors. Predictions on the environmental elements such as food availability and climatic contingencies must also be foreseeing, since a drastic change of them may jeopardize the survival of offspring and, therefore, the long term male's inclusive fitness.

By far the best studied influence of a given ecological process on ejaculatory behavior is a phenomenon called intra-sexual competition. It is long known that sexually mature males confront each other in contests that provide to them with opportunities for displaying their physical attributes. Males that prevail over their opponents are supposed to increase their chances to be chosen by females to sire their offspring (a condition that not always occurs; Jennions and Petrie, 2000). Male rivalry, however, does not stay at the organismal level. In many mammalian species, intra-sexual competition is extended to the cellular level through promiscuity. Indeed, the majority of sexually active females copulate sequentially with more than a single male during her fertile period, a circumstance that promotes sperm competition within their genital tract (Pizzari *et al.*, 2008; Parker and Pizzari, 2010). The ultimate prize of this competition is the possibility for the males' gametes to fertilize the female's egg (s). Taking in consideration this scenario, the reproductive outcome for each competing male would depend, in part, upon the number and mobility of the spermatozoa ejaculated by him relative to those inseminated by his competitors (Stockley, 2004; Pizzari *et al.*, 2008). It is precisely under this scenario where the possibility of wasting the male's reproductive resources is greater if competition is not assessed adequately.

Males have evolved different strategies to reduce semen wasting while seeking improving their chances of achieving paternity. Some of these strategies involve behaviors different from ejaculation (*e.g.*,

male's guarding the inseminated females after copulation). However, others strategies involve more directly ejaculation. Indeed, for some males it appears sufficient to inseminate repeatedly a single female during her reproductive period; a circumstance that presumably ensures having the female's genital tract plenty of his sperm by the ovulation time (Gomendio *et al.*, 2006). Other males, however, do not avoid confrontation and they seem to participate openly and happily in sperm competition contests. These last males, however, have evolved a sperm saving ejaculatory strategy called prudent sperm allocation. In this case, males estimate the magnitude of intra-sexual competition or the levels of the female's promiscuity thus adjusting not only the amount and quality of the semen ejaculated but also their sexual reproductive behavior (Gomendio *et al.*, 2006; Engqvist and Reinhold, 2007). Therefore, if sexual/sperm competition or the risk of it is high, the amount and quality of the semen ejaculated are reduced. Copulatory behavior matches this response. Indeed if the competitive context is high, the number of mounts and intromissions, as well as the ejaculatory latency, tend to decrease or are diminished significantly (Figure 1).

Another ecological aspect that deeply influences ejaculatory behavior is social rank. Indeed, ejaculatory latency is commonly shorter in subordinated than in dominant males. Although the reasons for this phenotypic difference are unclear, it is likely that in some instances it may reflect intrinsic phenotypic distinctions. This possibility is supported by observations showing a relationship between copulatory abilities, penile sensitivity and the levels of aromatase activity and testosterone/estrogen receptors expression in the brain of male rats (Olivier *et al.*, 2006). Short ejaculatory latencies displayed by subordinated males could also illustrate a behavioral adaptation associated with sneaking-based reproductive tactics. This copulatory strategy is frequently observed in subordinated males since they commonly are younger, with smaller body sizes, poorer sexual experience, less favored by females and constantly threatened by their dominant competitors. So they must take advantage when the opportunity to copulate is given. The hypothesis that a short ejaculatory latency is a behavioral adaptation is supported by the fact that the values of the testes/body size index are regularly higher in subordinated than in dominant males (Preston *et al.*, 2001; Holt and Van Look, 2004), and by observations showing that subordinated males, if provided with the chance of changing their social status to a higher order rank, shift their reproductive tactic from the sneaking-based to a dominance-based copulatory pattern (Rudolfson *et al.*, 2006); the latter pattern being characterized by longer ejaculation latencies and increased numbers of mounts

and intromissions that could last for over 30 minutes at least in rodents.

Ejaculation also plays a major role in enhancing male's self-sexual assertion, sexual sociability and reproductive success in various mammalian species. In male rodents, for instance, ejaculation (and probably the pleasurable orgasmic perception commonly associated with it) is the most reinforcing component of sexual behavior and induces a reward after copulatory encounters (Phillips-Farfán and Fernández-Guasti, 2009; Tenk *et al.*, 2009). Interestingly, ejaculation-related sexual rewarding increases the availability of androgen metabolites in the male's urine. The urinary presence of these metabolites indicates that males are sexually experienced, a fact that makes them preferable to females searching for a reproductive partner. Finally, masturbation as an expression of ejaculatory behavior permits males to enhance their sexual behavioral responses, to reduce anxiety levels and to renew sperm stores in preparation to forthcoming sexual encounters; this makes masturbatory behavior an adaptive process. Although masturbation has long thought to be essentially a human, recent experimental data support that masturbatory activity also occurs in other primates (Hull *et al.*, 2006).

In sum, from an ecological perspective ejaculation is much more than a physiological process involved in male-to-female sperm transfer. It allows the male to preserve their reproductive resources, to socialize his sexual/reproductive behavior, to publish their sexual abilities, to gain sexual self-confidence and ultimately to increase his chances of being a father. This might explain why male bodies have gone far to develop an intricate system to control ejaculation and why altered ejaculation could be so disturbing, as it will be discussed.

**THE EJACULATE: A *sui generis* FLUID**

The semen expelled during ejaculation is also known as seminal fluid. It is typically translucent with a white, grey or even yellowish tint. The amount of

semen ejaculated varies noteworthy among mammals (e.g. 1 ml in rams; 3 ml in men; 9 ml in dogs; 70 ml in stallions and 250 ml in boars). The human ejaculate clots and then lyses, whereas in many rodents a seminal plug is formed following ejaculation (Luke and Coffey, 1994).

The ejaculate is constituted by cells, the spermatozoa and by fluid called seminal plasma. The seminal plasma results from the mixture of secretions from the male accessory sexual glands. Among mammals, no other organs present such an anatomical and biochemical diversity as these accessory structures. Indeed, while rats display seminal vesicles, prostate, coagulating and bulbourethral glands, dogs only have the prostate. Seminal vesicles are absent in carnivores and are well developed in man, stallion, rat and guinea pig. Three distinct anatomical and histological lobes (dorsal, ventral and lateral) with different functions characterize the prostate in rats, whereas in dog and man, the prostate appears as a single structure. A pair of bulbourethral glands are present in most terrestrial mammals but are absent in the aquatic ones, and there are three pairs in some marsupials (Rodger and Huges, 1973). Such an impressive variation might reflect the vast diversity of environments and reproductive habitats in which mammals live (Luke and Coffey, 1994).

**The semen and seminal plug**

The average volume of the human ejaculate is 3 ml (ranging from 2 to 6 ml). The spermatozoa are present in the range of 100 million/ml and constitutes less than 1 % of the total volume of the ejaculate. The major volumetric contribution of the ejaculate comes from the seminal plasma of which the seminal vesicles allot 1.5 to 2 ml, the prostate 0.5 ml, and bulbourethral glands 0.1 to 0.2 ml. The seminal plasma provides a nutritive and protective medium for the spermatozoa during their deposition into the females' reproductive tract. The importance of male accessory sexual glands is highlighted whenever they become dysfunctional.

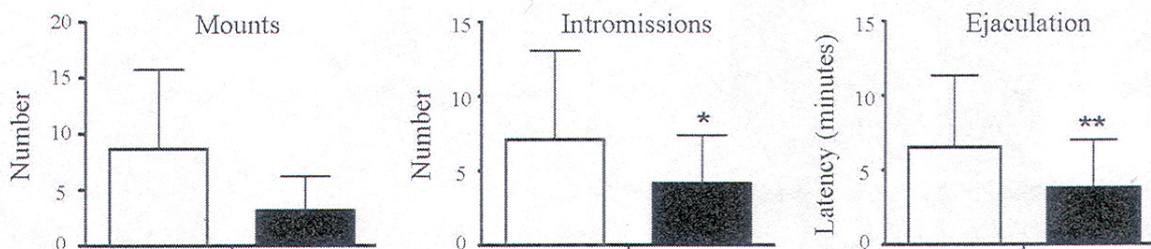


Figure 1. Male copulatory behavior under two different contexts. Non-competitive (open bar) and intra-sexual competition (closed bar). Mann-Whitney Rank Sum Test \* $P < 0.015$ , \*\* $P = 0.048$

The mammalian spermatozoon has two main components, the head and the flagellum (or tail), which are bridged by the neck. The head contains the nucleus and acrosome surrounded by cytoskeletal components and cytoplasm. The sperm nucleus contains have of the genetic material including one or the other of the sex chromosomes (called X or Y); chromatin in the spermatozoids nucleus is highly condensed. The flagellum contains a central axonema surrounded by an outer dense fiber. In the anterior flagellum there are mitochondria forming in a tight helix around the dense outer fibers (Eddy and O'Brien, 1994). Although all mammalian spermatozoa have these general characteristics, there are species-specific differences in the size and shape of the head and length and relative size of the flagellum.

When mammalian sperm are released from the seminiferous epithelium, they are immature and acquire forward motility and the ability to fertilize eggs as they pass through the epididymis, where they undergo substantial changes in function, composition and organization, the pattern and effectiveness of flagellar activity and the ability to bind to the zona *pellucida* (Orgebin-Crist and Fournier-Delpech, 1982; Robaire and Hermo, 1988). Changes in plasma membrane composition and organization contribute to functional modifications, and involve changes in surface charge, lipid composition, protein composition and antibody binding (Eddy and O'Brien, 1994).

The fluid portion of the ejaculate is the seminal plasma. Its components vary across mammalian species (for a review Poiani, 2006; also Table 1). Poani (2006) has recently revised the role of the seminal plasma in sperm capacitation, sperm competition and fertilization. Sperm capacitation is any modification undertaken by spermatozoa facilitating them to become capable of achieving successful fertilization. Capacitation, on the other hand, is process that involves the acquisition of a coat of carbohydrates that form the glucocalyx. This is necessary for the accomplishment of full capacitation and fertilizing ability.

This is important since the outcome of sperm competition (see below) and sperm viability is affected by spermatozoa speed and mobility (Birkhead *et al.*, 1999) considering the female reproductive tract represents as a particularly hostile environment (Poiani, 2002). Seminal plasma could have allospermicidal function, so the sperm of a competitor male could be eliminated by a chemical attack (Poiani, 2006). In fact, seminal plasma of healthy men may contain cytokines that potentially could damage the sperm of others. In addition, contains leucocytes that not only could attack competitor sperm but also to remove defective sperm (Tomlison *et al.*, 1992).

Table 1. Seminal plasma components in different species.

Seminal plasma constituents	Function
<i>Cells</i>	
macrophages, monocytes and polymorphonuclear leucocytes	Produce immune reaction against foreign bodies (man)
<i>Peptides</i>	
spermadhesins	Sperm capacitation (boar)
calcitonin and carnitine	Sperm motility (man)
semenogelin	Seminal fluid coagulation (man)
semenoclotin	Copulatory plug formation (mouse)
phospholipases	Sperm motility (bull)
phospholipase	Acrosome reaction (bull)
vitronectin	Acromose reaction (man)
<i>Poliamines</i>	
putrescine	Seminal clot formation (man)
spermidine and spermine	Seminal clot formation (rat)
<i>Catecholamines</i>	
adrenaline and noradrenaline	Modulate immune activity in the female reproductive tract (man)
<i>Eicosanoids</i>	
prostaglandin	Sperm defense (man)
<i>Alkaloids</i>	
beta-endorphin	Sperm defense (man) Reduce female mating receptivity (rat)
<i>Salts</i>	
bicarbonate	Sperm motility through control of pH (man)
urate	Protect spermatozoa against oxidative damage in female reproductive tract (man)
<i>Metals</i>	
zinc	Inhibit lymphocyte proliferation in female reproductive tract (man)

In humans, it is unresolved why the seminal plasma presents coagulation and liquefaction. However, it is known that infertile men may have impairment of the liquefaction process. The coagulation and liquefaction of semen vary in different species, *e.g.* the semen of bulls or dogs do not coagulate, while semen of rats and guinea pigs ejaculate a firm pellet that does not liquefy. Human semen coagulates within 5 minutes after ejaculation into a semi-solid gel and upon further

standing for 5-20 minutes the clot spontaneously liquefies to form a viscous liquid (Tauber *et al.*, 1975).

In mammals, seminal vesicles secretions are involved in coagulation and prostatic enzymes in the liquefaction. The proteins secreted by the seminal vesicles are major proteins and enzymes involved in the rapid clotting of the ejaculate. In man, the major clotting protein has been termed semenogelin, and it serves as a substrate for prostate-specific enzymes that degrade the clot (Aumuller *et al.*, 1990). It is unknown why clotting and lysing mechanism is important to the reproductive process.

Seminal plugs are found in some mammalian species particularly in those in which females copulate with different partners. Because multi-partners mating results in sperm competition among males, the evolution of certain biochemical mechanisms enhances seminal coagulation to copulatory plug formation (Dixon and Anderson, 2002). The function of the copulatory plug is to prevent back-flow of semen and/or to interfere with the ejaculates of other males. The existence of a hard plug, which completely fills the lumen of the vagina of certain mammals, has been known for more than one hundred and fifty years. Many studies exploring the role of the seminal plug have been done in rats. Copulation in rats includes 10 to 15 intromissions culminating in ejaculation. Upon ejaculation sperm are expelled first, followed by secretions from the accessory sexual glands that harden into the vagina to form the seminal plug. This plug adheres to the cervix and vaginal walls, and it is necessary for sperm transport (Blandau, 1945).

Primates, rodents and artiodactyls present the seminal plugs. Among primates, chimpanzees and orangutans present seminal plugs but are absent in gorillas and humans. This may be due to the relative lack of male-male competition during mating of gorillas and humans. Among rodents, guinea pigs, rats, hamsters, and mice present seminal plug after ejaculation. Until now, among artiodactyls, the domestic pigs have a copulatory plug after copulation.

In general, it was recognized that sexual selection might continue after insemination, and that rather than competing for partners, males compete for fertilizations. The presence of a seminal plug is one of the reproductive strategies to increase the male's possibilities to obtain more offspring.

In rats, the hardness of the seminal plug depends on the secretions of the coagulating glands. This secretion contains an enzyme called vesiculase that coagulate the ejaculate. When coagulating glands are totally removed, no seminal plug is formed after coitus, and sperm transport to the uterus did not occur, therefore, males were completely sterile (Carballada and

Esponda, 1992). The secretions of the prostate allow the adhesion of the seminal plug to the vagina (Tlachi-López *et al.*, 2011). The weight and size of the seminal plug depends mainly on the secretions of the seminal vesicles (Carballada and Esponda, 1992). The rostral end of the seminal plug forms a cup at the vaginal cervical junction holding the sperm under pressure until transcervical transport is completed. Seminal plugs are usually loosened by subsequent intromissions by the same or different male. If plugs are dislodged in less than 6 minutes after an ejaculation, the sperm transport is disrupted (Mathews and Adler, 1977). The length of time corresponds to the male rat's postejaculatory interval. This interval prevents the male from reassume mating, and then allows complete sperm transport in the female genital tract. However, a different male has the ability to dislodge the plug reducing or avoiding the amount of sperm delivered by the previous male, and deposit his own sperm and plug (Wallach and Hart, 1983).

#### **Sperm transport in the male and female reproductive tracts**

Sperm transport occurs not only into the female genital tract after copulation, but also in the male genital tract after spermatogenesis. Sperm is transported passively from the seminiferous tubules to the *rete testis*, and then to the efferent ducts. These ducts become highly convoluted as they reach the epididymis, which is a single, long and highly convoluted duct on the posterior border of the testis. The epididymis is divided in caput, corpus and cauda. Peristaltic movements of the epididymis propel the spermatozoa from the caput to the cauda. Transit through epididymis is slow and constant in several species (Harper, 1994).

Therefore, during seminal emission the mature spermatozoa from the epididymis cauda are transported through the vas deferens and proximal urethra and then are mixed with the secretions of the accessory sexual glands. Then the ejaculate (seminal plasma and sperm) is expelled by the urethral *meatus*.

Most male mammals deposit their ejaculates into the vagina. The pH of the vagina is acid; this acidity is maintained by the presence of lactic acid due to the action of *Doederlein bacilli* on the vaginal secretions. Seminal plasma serves as a buffer protecting sperm. The vagina is a hostile environment to spermatozoa and those that are not rapidly entrapped in the cervical mucus die and are voided to the exterior (Fox *et al.*, 1973).

In primates, immediately after ejaculation, seminal plasma coagulates; the coagulum is broken down by proteolytic enzymes. In one hour, the material is liquefied and spermatozoa are motile. The coagulum

probably acts to retain spermatozoa in the vagina close to the cervix, thus permitting maximal access for the spermatozoa to become entrapped in the cervical mucus. During coitus, intravaginal pressure is negative but becomes positive during female orgasm. Then it is possible that, the vaginal pressure and the smooth muscle vaginal activity will also propel the spermatozoa into the cervix (Harper, 1994). The consistency, of cervical mucus forms the basis for the ovulation method (Billings) of naturally family control (Billings *et al.*, 1972).

The women cervix has crypts; it seems that only motile spermatozoa are lodged in these crypts. It has been suggested that the cervical crypts serve as reservoirs allowing a continued release of viable spermatozoa approximately during hours (Harper, 1994). The filtering action of the cervical mucus is a mechanism to guarantee that only the fittest spermatozoa ascend toward the site of fertilization. Cervical mucus from infertile women contains cytotoxic antibodies to their partner's spermatozoa inhibiting sperm motility (Marthur *et al.*, 1988). Even though the cervix represents a major barrier to sperm ascent, many spermatozoa reach the uterus. In contrast, in those mammals which ejaculates are deposited in the uterus, *e.g.* pigs, a great quantity of sperm is found in uterus (Harper, 1994). Nevertheless, the uterotubal junction constitutes a barrier to sperm ascent. The uterotubal junction is between the uterus and the oviduct. During transit into the female tract, sperm undergo the so-called capacitation, and is required for fertilization. This consists of a destabilization of the plasma membrane of sperm head without any visible morphological changes.

In a few words sperm transport depends on several factors, not only of flagellar movement. In the male tract depends on seminal plasma, the contraction of the reproductive ducts and muscles of the perineum. This allows the expulsion of semen through the urethra. Once deposited the semen in the female, sperm transport depends on the pressure of the seminal plug (if applicable), changes of the intravaginal pressure and activity of the oviduct to reach the site of fertilization.

#### **DISORDERS OF EJACULATION: FALLING HOPES WITH ADAPTIVE VALUE?**

Until a few years ago, the human medical community considered ejaculatory disorders as having a purely psychological etiology. Fortunately, this concept changed over the past decade or so, springing the elaboration of a wealth of studies aimed at characterizing the psychological and organic factors that lead to "ejaculatory disorders" in human and non-human mammalian species (*e.g.*, rats, mice and horses)

(human and rats, Waldinger, 2002; horses, McDonnell, 1992). As a result, it is now recognized that ejaculation is normally preceded by semen emission and followed by an orgasmic perception in mammalian males (Newman *et al.*, 1991). We also are now aware that when each or all of these phases "malfunction", males develop sexual symptoms that have relevant reproductive consequences.

#### **Precocious ejaculation, anorgasmia, delayed ejaculation and retro-ejaculation**

A classification of ejaculatory disorders has also emerged as a result of these investigations. Emission phase disorders are so far exemplified by retrograde ejaculation. Ejaculation phase disorders conjunct premature, deficient/partial and delayed ejaculation, anejaculation, azoospermic ejaculation and urinary incontinence. Orgasmic disorders include anorgasmia and the so called postorgasmic illness syndrome (Jannini and Lenzi, 2005). Even though all these conditions may be conceived as disorders and in many cases could be associated with abnormal conditions, at least some of them might also reflect physiological strategies to cope with sexual competition and/or promiscuity and may have psychogenic and organic components (Lawrence, 1984; McDonnell, 1992). In the following paragraphs we will speculate on this possibility by commenting on cases and ecological scenarios where a presumed ejaculatory dysfunction could have an adaptive value.

We will begin by considering premature ejaculation. Main stream urologists, sexologists and human reproductive biologists would probably coincide that premature ejaculation is undoubtedly the most frequent ejaculatory problem encounter in their medical practice (Jannini and Lenzi, 2005)) Nevertheless, as mentioned before, short ejaculatory latencies are characteristic of subordinated males. In natural settings, this behavioral feature exemplifies a reproductive strategy that allows males to increase their chances of having copulatory encounters avoiding the physical confrontation with dominant males and the possibility of being harmed (Lawrence, 1984). Also ejaculating faster would increase the males' opportunities to copulate with more females. In this context, prematurely ejaculating males could well represent an endo-phenotype that can be modified by sexual training or by changing social status, but it is never considered as an abnormal condition. Thus, human males "suffering" of premature ejaculation might only represent a phenotypic variety associated with "unconscious" subordination. The observation that premature ejaculation is diagnosed to a similar percentage (25 %) among male human populations around the world regardless of credence and of economical or social status (Jannini and Lenzi, 2005), lends support to this notion.

Human delayed ejaculation is also considered as an ejaculatory malfunction (Jannini and Lenzi, 2005). In male rodents, however, delayed ejaculation has an adaptive value since female rats require long-lasting stimulation to reach the sexual excitement needed to increase their chances of getting pregnant (Toner and Adler, 1986). This may explain why dominant male rats in the wild have developed a copulatory strategy that enables them to delay their ejaculation for approximately 30 minutes while providing adequate female sexual stimulation; if males succeed their inclusive fitness may increase (Pattij *et al.*, 2005). Once again, delayed ejaculation in humans may only reflect a phenotypic variation related with reproductive strategies that could increase their possibilities of fathering offspring, and do not necessarily reflect a dysfunctional state.

Mammalian males may show no ejaculation or produce azoospermic ejaculates in spite of displaying normal sexual arousal and persistent mounting and thrusting. Although at first glance both circumstances might seem abnormal and non-sense since males would decrease their inclusive fitness, self-assurance and sexual interest while increasing their frustration and aggressiveness (McDonnell, 1992), anejaculation and azoospermic ejaculation could also have an adaptive value in natural, ecologically meaningful settings. In particular, if males are confronted with copulatory contexts of relatively high intra-sexual competition, they may choose during copulation to remove the semen of their competitors that copulated before with the female (Ramm *et al.*, 2005) while saving their own sperm stores for better opportunities. Even though under this scenario males would not win the competition, they would certainly impair the reproductive success of their competitor males. A similar case might be casted for deficient or partial ejaculation since it could very well be the result of physiological mechanisms modulating differential sperm allocation under high pressures associated with sperm competition.

The last example of "ejaculatory dysfunctional states" that might have an adaptive value when evaluated in natural setting is the so called anorgasmia (Jannini and Lenzi, 2005). How can anorgasmia be adaptive at all for males? Ejaculation and orgasm are known to reinforce the couple's bonding strength (Nelson and Purdon, 2011). This, however, is opposite to the reproductive interests of males whose instincts are known to drive them to look after more than a single female to fathering offspring. Clearly, if males avoid the reinforcing effects of ejaculation and orgasm through anorgasmia, they could pursue more easily their reproductive interests by creating loose bonds with their reproductive female partners.

In many cases such "dysfunctional states" might only be distinct functional traits that clearly reflect the variability and plasticity of the mammalian sexual phenotype. Unfortunately, biological evolution is not driven by social precepts and does not necessarily match social needs.

## CONCLUDING REMARKS

Ejaculation constitutes a fundamental process in the males' reproduction. The process requires efficient propulsion system to ensure semen transport through the male urethra and its expulsion into the vaginocervical tract. In spite of one spermatozoon is required to fertilize an ovum, millions of them are expelled, presumably due to sperm competition. Great efforts have been made by mammalian males to evolve intricate mechanisms essentially designed to avoid wasteful use of semen (e.g., prudent sperm allocation). Although it is conventionally believed that males are always ready to copulate and ejaculate, the evidence discuss support that neuroendocrine mechanisms exert powerful inhibitory actions that must be overcome by the male to achieve ejaculation. And even then, subtle mechanisms as yet poorly understood prevent males to make unrestrictive use of their costly reproductive resources under unfavorable copulatory contexts. The existence of different male copulatory phenotypes, even those considered as ejaculatory disturbances in humans, may be considered as reproductive strategies evolved through evolution.

## REFERENCES

- Allard, J., Truitt, W.A., McKenna, K.E., Coolen, L.M. 2005. Spinal cord control of ejaculation. *World Journal of Urology*. 23:119-126.
- Aumuller, G., Seitz, J., Lilja, H., Abrahamson, T.A., Vonderkammer, H., Scheit, K.H. 1990. Species-specificity and organ-specificity of secretory proteins derived from human prostate and seminal vesicle. *Prostate*. 17:31-40.
- Beach, F.A. 1967. Cerebral and hormonal control of reflexive mechanism involved in copulatory behavior. *Physiological Reviews*. 47:289-316.
- Beach, F.A. 1969. Locks and beagles. *American Psychologist*. 24:971-989.
- Bermant, G., Clegg, M.T., Beamer, W. 1969. Copulatory behaviour of the ram, *Ovis aries* I: A normative study. *Animal Behaviour*. 17:700-705.

- Bernabe, J., Clement, P., Denys, P., Alexandre, L., Giuliano, F. 2007. Seminal plug expulsion induced by electrical stimulation of the intermesenteric nerve in anesthetized rats. *Biology of Reproduction*. 77:717-722.
- Bierinx, A.S., Sebille, A. 2006. The urethral striated sphincter in adult male rat. *Anatomy and Embryology*. 211:435-441.
- Billings, E.L., Billings, J.J., Brown, J.B., Burger, H.G. 1972. Symptoms and hormonal changes accompanying ovulation. *The Lancet*. 1:282-284.
- Birkhead, T.R., Martínez, J.G., Burke, T., Froman, D.P. 1999. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*. 266:1759-1764.
- Blandau, R.J. 1945. On the factors involved in sperm transport through the cervix uteri of the albino rat. *American Journal of Anatomy*. 77:253-272.
- Carballada, R., Esponda, P. 1992. Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 95:639-648.
- Ciner, M., van Vorstenbosch, C.J., Dijkstra, G., van den Hurk, R. 1996. Penile bulb and its relationship with the pelvic urethra and the penile urethra in the rat: Light and scanning electron microscopical observations. *The Anatomical Record*. 244:452-469.
- Clement, P., Kia, H.K., Droupy, S., Bernabe, J., Alexandre, L., Denys, P., Giuliano, F. 2006. Role of peripheral innervation in p-chloroamphetamine-induced ejaculation in anesthetized rats. *Journal of Andrology*. 27:381-389.
- Cruz, Y., Downie, J.W. 2005. Sexually dimorphic micturition in rats: Relationship of perineal muscle activity to voiding pattern. *American Journal of Physiology*. 289:R1307-1318.
- Dixon, A.F., Anderson, M.J. 2002. Sexual selection, seminal coagulation and copulatory plug formation in primates. *Folia Primatologica*. 73:63-69.
- Dusser de Barenne, J.G., Koskoff, Y.O. 1932. Flexor rigidity of the hind legs and priapism in the "secondary" spinal preparation of the male cat. *American Journal of Physiology*. 102:75-86.
- Eddy, E.M., O'Brien, D.A. 1994. The spermatozoon. In: E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, NY. pp. 29-77.
- Engqvist, L., Reinhold, K. 2007. Sperm competition games: Optimal sperm allocation in response to the size of competing ejaculates. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*. 274:209-217.
- Fisher, D.O., Double, M.C., Blomberg, S.P., Jennions, M.D., Cockburn, A. 2006. Post-mating sexual selection increases lifetime fitness of polyandrous females in the wild. *Nature*. 444:89-92.
- Fox, E.A., Meldrum, S.J., Watson, B.W. 1973. Continuous measurement by radio-telemetry of vaginal pH during human coitus. *Journal of Reproduction and Fertility*. 33:69-75.
- Giuliano, F., Clement, P. 2005. Physiology of ejaculation: Emphasis on serotonergic control. *European Urology*. 48:408-417.
- Gomendio, M., Martin-Coello, J., Crespo, C., Magaña, C., Roldán, E.R.S. 2006. Sperm competition enhances functional capacity of mammalian spermatozoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103:15113-15117.
- Gosling, J.A., Dixon, J.S., Critchley, H.O., Thompson, S.A. 1981. A comparative study of the human external sphincter and periurethral levator ani muscles. *British Journal of Urology*. 53:35-41.
- Harper, M.J.K. 1994. Gamete and Zygote Transport. In: Knobil, E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp.123-187.
- Hart, B.L. 1968. Sexual reflexes and mating behavior in the male rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 65:453-460.
- Holmes, G.M., Chapple, W.D., Leipheimer, R.E., Sachs, B.D. 1991. Electromyographic analysis of male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiology and Behavior*. 49:1235-1246.

- Holmes, G.M., Sachs, B.D. 1991. The ejaculatory reflex in copulating rats: Normal bulbospongiosus activity without apparent urethral stimulation. *Neuroscience Letters*. 125:195-197.
- Holt, W.V., Van Look, K.J.W. 2004. Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory test of semen quality. *Reproduction*. 127:527-535.
- Hsu, G.L., Hsieh, C.H., Wen, H.S., Hsu, W.L., Wu, C.H., Fong, T.H., Chen, S.C., Tseng, G.F. 2004. Anatomy of the human penis: The relationship of the architecture between skeletal and smooth muscles. *Journal of Andrology*. 25:426-431.
- Hull, E., Wood, R.I., McKenna, K.E. 2006. Neurobiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp.1729-1824.
- Jannini, E.A., Lenzi, A. 2005. Ejaculatory disorders: epidemiology and current approaches to definition, classification and subtyping. *World Journal of Urology*. 23:68-75
- Jennions, M.D., Petrie, M. 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biology Reviews on the Cambridge Philosophical Society*. 75:21-64
- Keast, J.R. 2006. Plasticity of pelvic autonomic ganglia and urogenital innervation. *International Review of Cytology*. 248:141-208.
- Kippin, T.E., Pfaus, J.G. 2001. The development of olfactory conditioned ejaculatory preferences in the male rat. I. Nature of the unconditioned stimulus. *Physiology and behavior*. 73:457-469.
- Larsson, K. 1956. Conditioning and Sexual Behavior in the Male Albino Rat. *Almqvist and Wiksell*. Stockholm. pp. 1-267.
- Lawrence, K.H. 1984. Survival of the fastest: On the origin of premature ejaculation. *The Journal of Sex Research*. 20:109-122.
- Lehtoranta, M., Streng, T., Yarkin, E., Paranko, J., Kolts, I., Talo, A., Santti, R. 2006. Division of the male rat rhabdosphincter into structurally and functionally differentiated parts. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*. 288:536-542.
- Lott, D.F. 1981. Sexual behavior and intersexual strategies in American bison. *Zeitschrift für Tierpsychologie*. 56:97-114.
- Lucio, R.A., Tlachi, J.L. 2008. Análisis de la Cópula y el Eyaculado en la Rata Albina (*Rattus norvegicus*). *Manual de Laboratorio*. Góngora Ediciones. Tlaxcala, México. pp. 1-48.
- Luke, M.C., Coffey, D. 1994. The male sex accessory tissues. Structure, androgen action and physiology. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp. 1435-1487.
- McDonnell, S.M. 1992. Ejaculation. Physiology and dysfunction. *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 8:57-70.
- Marson, L. 1997. Identification of central nervous system neurons that innervate the bladder body, bladder base, or external urethral sphincter of female rats: A transneuronal tracing study using pseudorabies virus. *The Journal of Comparative Neurology*. 389:584-602.
- Marson, L. 2004. Lesions of the periaqueductal gray block the medial preoptic area-induced activation of the urethro-genital reflex in male rats. *Neuroscience Letters*. 367:278-282.
- Marson, L., Carson 3rd, C.C. 1999. Central Nervous System Innervation of the Penis, Prostate, and Perineal Muscles: A Transneuronal Tracing Study. *Molecular Urology*. 3:43-50.
- Marson, L., List, M.S., McKenna, K.E. 1992. Lesions of the nucleus paragigantocellularis alter ex copula penile reflexes. *Brain Research*. 592:187-192.
- Marson, L., McKenna, K.E. 1994. Stimulation of the hypothalamus initiates the urethro-genital reflex in male rats. *Brain Research*. 638:103-108.
- Marson, L., McKenna, K.E. 1990. The identification of a brainstem site controlling spinal sexual reflexes in male rats. *Brain Research*. 515:303-308.
- Marthur, S., Roselund, C., Carlton, M. 1988. Studies on sperm survival and motility in the presence of cytotoxic sperm antibodies. *American*

- Journal of Reproductive Immunology and Microbiology. 17:41-47.
- Mathews, M., Adler, N.T. 1977. Facilitative and inhibitory influences of reproductive behavior on sperm transport in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 91:727-141.
- McKenna, K.E., Chung, S.K., McVary, K.T. 1991. A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *American Journal of Physiology*. 261:1276-1285.
- McKenna, K.E., Nadelhaft, I. 1986. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *The Journal of Comparative Neurology*. 248:532-549.
- Nadelhaft, I., Booth, A.M. 1984. The location and morphology of preganglionic neurons and the distribution of visceral afferents from the rat pelvic nerve: A horseradish peroxidase study. *The Journal of Comparative Neurology*. 226:238-245.
- Nadelhaft, I., McKenna, K.E. 1987. Sexual dimorphism in sympathetic preganglionic neurons of the rat hypogastric nerve. *The Journal of Comparative Neurology*. 256:308-315.
- Nelson, A.L., Purdon, C. 2011. Non-Erotic Thoughts, Attentional Focus, and Sexual Problems in a Community Sample. *Archives of Sexual Behavior*. 40:395-406.
- Newman, H.F., Reiss, H., Northrup, J.D. 1991. Physical basis of emission, ejaculation, and orgasm in the male. *Urology*. 19:341-350.
- Olivier, B., Chan, J.S.W., Pattij, T., de Jong, T.R., Oosting, R.S., Veening, J.G., Waldinger, M.N. 2006. Psychopharmacology of male rat sexual behavior: Modeling human sexual dysfunctions. *International Journal of Impotence Research*. 18:S14-S23.
- Orbach, J. 1961. Spontaneous ejaculation in rat. *Science*. 134:1072-1073.
- Orgebin-Crist, M.C., Fournier-Delpech, S. 1982. Sperm-egg interaction. Evidence for maturational changes during epididymal transport transit. *Journal of Andrology*. 3:429-433.
- Pacheco, P., Camacho, M.A., Garcia, L.I., Hernandez, M.E., Carrillo, P., Manzo, J. 1997. Electrophysiological evidence for the nomenclature of the pudendal nerve and sacral plexus in the male rat. *Brain Research*. 763:202-208.
- Pacheco, P., Martínez, A., Hernández, M.E., Manzo, J. 2002. Anatomy and histology of the external urethral sphincter of the male rat. *Society for Neuroscience*. Washington, DC. Abstract. 667.22.
- Parker, G.A., Pizzari, T. 2010. Sperm competition and ejaculate economics. *Biological Reviews*. 85:897-934.
- Pastelin, C.F., Pacheco, P., Camacho, M., Cruz, Y. 2011. Another component of the pelvic plexus that innervates the penis in the rat. *Urology*. 78:232.e7-13.
- Pastelin, C.F., Zempoalteca, R., Pacheco, P., Downie, J.W., Cruz, Y. 2008. Sensory and somatomotor components of the "sensory branch" of the pudendal nerve in the male rat. *Brain Research*. 1222:149-155.
- Pattij, T., de Jong, T.R., Uitterdijk, A., Waldinger, M.D., Veening, J.G., Cools, A.R., van der Graaf, P.H., Olivier, B. 2005. Individual differences in male rat ejaculatory behavior searching for models to study ejaculation disorders. *The European Journal of Neuroscience*. 22:724-734.
- Phillips-Farfán, B.V., Fernández-Guasti, A. 2009. Endocrine, neural and pharmacological aspects of sexual satiety in male rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 33:442-455.
- Pizzari, T., Worley, K., Burke, T., Froman, D.P. 2008. Sperm competition dynamics: Ejaculate fertilising efficiency changes differentially with time. *BMC Evolutionary Biology*. 8:332-336.
- Poiani, A. 2002. Sperm competition promoted by sexually transmitted pathogens and female immune defences. *Ethology Ecology and Evolution*. 14:327-340.
- Poiani, A. 2006. Complexity of seminal fluid: A review. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 60:289-310.

- Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J., Wilson, K. 2001. Dominant rams lose out by sperm depletion. *Nature*. 409:681-682.
- Ramm, S.A., Parker, G.A., Stockley, P. 2005. Sperm competition and the evolution of male reproductive anatomy in rodents. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*. 272:949-955.
- Robaire, B., Hermo, L. 1988. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: Structure, functions, and their regulation. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp. 999-1080.
- Rodger, J.C., Huges, R.L. 1973. Studies of the accessory glands of male marsupials. *Australian Journal of Zoology*. 21:303-320.
- Rudolfson, G., Figenschou, L., Folstad, I., Tveiten, H., Figenschou, M. 2006. Rapid adjustments of sperm characteristics in relation to social status. *Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences*. 273:325-332.
- Sachs, B.D. 1982. Role of striated penile muscles in penile reflexes, copulation, and induction of pregnancy in the rat. *Journal of Reproduction and Fertility*. 66:433-443.
- Sachs, B.D., Garinello, L.D. 1978. Interaction between penile reflexes and copulation in male rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 92:759-767.
- Sachs, B.D., Garinello, L.D. 1979. Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Research*. 171:152-156.
- Sachs, B.D., Meisel, R.L. 1988. The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp. 1393-1485.
- Setchell, B.P., Maddocks, S., Brooks, D.E. 1994. Anatomy, Vasculature, and Fluids of the Male Reproductive Tract. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. pp. 1063-1175.
- Shafik, A., Shafik, A.A., Shafik, I., el-Sibai, O. 2005. Urethral sphincters response to cavernosus muscles stimulation with identification of cavernoso-urethral reflex. *Archives of Andrology*. 51:335-343.
- Stockley, P. 2004. Sperm competition in mammals. *Human Fertility*. 7:91-97.
- Tang, Y., Rampin, O., Giuliano, F., Ugolini, G. 1999. Spinal and brain circuits to motoneurons of the bulbospongiosus muscle: Retrograde transneuronal tracing with rabies virus. *Journal of Comparative Neurology*. 414:167-192.
- Tauber, P.F., Zaneveld, L.J.D., Propping, D., Schumacher, G.F.B. 1975. Components of human split ejaculate. *Journal of Reproduction and Fertility*. 43:249.
- Tenk, C.M., Wilson, H., Zhang, Q., Pitcher, K.K., Coolen, L.M. 2009. Sexual reward in male rats: Effects of sexual experience conditioned place preferences associated with ejaculation and intromissions. *Hormones and Behavior*. 55:93-97.
- Tlachi-López, J.L., López, A., Hoffman, K., Velázquez-Moctezuma, J., García-Lorenzana, M., Lucio R.A. 2011. Rat dorsal prostate is necessary for vaginal adhesion of the seminal plug and sperm motility of the uterine horns. *Biological Research*. (in press).
- Tomlison, M.J., White, A., Baratt, C.L.R., Bolton, A.E., Cooke, I.D. 1992. The removal of morphologically abnormal sperm forms by phagocytes: A positive role for seminal leukocytes. *Human Reproduction*. 7:517-522.
- Toner, J.P., Adler, N.T. 1986. Influence of mating and vaginocervical stimulation on rat uterine activity. *Journal of Reproduction and Fertility*. 78:239-249.
- Truitt, W.A., Coolen, L.M. 2002. Identification of a potential ejaculation generator in the spinal cord. *Science*. 297:1566-1569.
- Truitt, W.A., Shipley, M.T., Veening, J.G., Coolen, L.M. 2003. Activation of a subset of lumbar spinothalamic neurons after copulatory behavior in male but not female rats. *The Journal Neuroscience*. *Journal of Neuroscience*. 23:325-331.
- Waldinger, M.D. 2002. The neurobiological approach to pre-mature ejaculation. *The Journal of Urology*. 168:2559-2567.
- Wallach, S.J.R., Hart, B.L. 1983. The role of the striated penile muscles of the male rat in seminal plug dislodgement and deposition. *Physiology and Behavior*. 32:815-821.

Zeitlin, A.B., Cottrell, T.L., Lloyd, F.A. 1957.  
Sexology of the paraplegic male. Fertility and  
Sterility. 8:337-344.

*Submitted September 09, 2011– Accepted October 25, 2011*  
*Revised received November 09, 2011*