

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y DE POSGRADO
COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES**

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

TESIS DE LICENCIATURA EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA BÁSICA



**BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGÍA**

**"CONSECUENCIAS HORMONALES DEL AYUNO EXPERIMENTAL
EN LAS CRÍAS DEL AVE FRATRICIDA *Sula nebouxii*."**

Alejandra Núñez de la Mora



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis se realizó bajo la dirección del Dr. Hugh Drummond Durey en el Laboratorio de Conducta Animal del Departamento de Ecología Evolutiva del Centro de Ecología, UNAM.

A mi abuelo Fausto

A Gabriel y Alicia
Rodrigo y Bernardo

A Miguel

A mis amigos de siempre

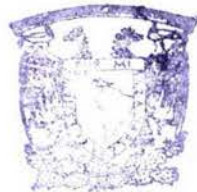


INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
I. REDUCCION DE LA NIDADA	2
Fratricidio	2
II. HORMONAS ESTEROIDES Y AGRESION	4
Esteroides sexuales	4
Esteroides sexuales y agresión en aves	6
Efectos de los encuentros agonísticos en las hormonas esteroides	8
III. ESTRES	10
Estrés en aves	13
IV. BIOLOGIA DEL BOBO DE PATAS AZULES	16
Endocrinología de las crías del bobo de patas azules	17
PLANTEAMIENTO E HIPOTESIS DE TRABAJO	18
METODOS	19
Zona de estudio y sujetos experimentales	19
Diseño experimental	19
Observación de conducta	20
Muestras de sangre	20
Peso	21
Sexado	21
Sobrevivencia de las crías	21
Análisis de esteroides	21
Cálculo de la concentración de esteroides y validación del RIA	23
Análisis estadístico	25
RESULTADOS	26
Sexo	26
Peso	26
Hormonas	29
Conducta	33
DISCUSION	35
BIBLIOGRAFIA	43
APENDICE	52
AGRADECIMIENTOS	54

RESUMEN

En el pájaro bobo de patas azules *Sula nebouxii*, la cría dominante elimina a su hermano menor mediante un incremento en la agresión si las condiciones alimenticias son inadecuadas. Para determinar si el aumento en la agresión que ocurre durante situaciones de escasez de alimento tiene un correlato endócrino, se evaluó el perfil de tres hormonas que se sabe están asociadas a conductas agonísticas: testosterona, estradiol y corticosterona. Se creó experimentalmente una situación de escasez alimenticia impidiendo a crías (únicas, dominantes y subordinadas) la ingestión de alimento durante 48 hrs. Antes, durante y después de este período de privación de alimento, se registraron las frecuencias conductuales, el peso y se tomaron muestras de sangre. Se obtuvieron los siguientes resultados: 1) Durante el período de ayuno aumentó la conducta agresiva de las crías dominantes; 2) Tras 48 hrs. de ayuno todas las crías bajaron de peso. Un día después de concluido el ayuno todas las crías recuperaron peso, mas a diferencia de las crías únicas y dominantes que alcanzaron el peso de sus controles, las subordinadas se mantuvieron bajas; 3) En ningún caso se encontraron niveles detectables ni de testosterona ni de estradiol; 4) Los niveles basales de corticosterona fueron significativamente mayores en las crías subordinadas que en las únicas y dominantes; 5) A las 48 hrs. de ayuno, los niveles de corticosterona aumentaron en todas las crías, regresando a niveles basales al reanudarse la alimentación. A partir de estos resultados no se puede establecer una correlación entre los niveles de las hormonas estudiadas y la conducta agresiva de las crías. Sin embargo, este es, a la fecha, el primer reporte de la respuesta hormonal a situaciones de ayuno en una especie de aves salvajes en condiciones de vida libre, así como la primera evidencia en crías de una especie de aves, de que los individuos subordinados tienen niveles basales de corticosterona más altos que los dominantes.



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

INTRODUCCION

I. REDUCCIÓN DE LA NIDADA

La selección natural ha favorecido en varias especies de aves la tendencia de los padres a producir una o más crías de las que normalmente pueden mantener a lo largo del costoso período de crianza. Esta inversión extra reditúa en al menos dos circunstancias: (1) cuando las condiciones ecológicas son excepcionalmente favorables, los padres "logran" mayor número de crías a costos bajos de esfuerzo parental y (2) en caso de que las primeras crías fracasen, ya sea como huevos o crías (por defectos congénitos, enfermedad o depredación), la cría extra salva la temporada reproductiva de los padres (Lack, 1947, 1966). En condiciones ecológicas no favorables en cambio, el tamaño de la nidada deberá ajustarse al número máximo de crías que los padres pueden alimentar, esto es, habrá una reducción facultativa de la nidada (Lack 1954; Ricklefs, 1965).

El mecanismo típico de reducción de la nidada es la competencia por alimento, facilitada en muchas especies por las asimetrías competitivas debidas a que las crías eclosionan con intervalos largos entre sí (Lack, 1954; Mock, 1984a). En varias especies, la competencia por el alimento produce la muerte de una o varias de las crías menores por inanición (p.e. Ricklefs, 1965 en aves paserinas; Warham, 1974 en pingüinos). En otras especies, en las que las crías tienen la capacidad de monopolizar el alimento y de agredir, la competencia por el alimento se intensifica hasta el punto en el que la agresión misma entre las crías resulta en la muerte de uno de los hermanos menores, es decir, ocurre fratricidio (p.e., Edwards y Collopy, 1983 en águilas; Mock, 1984b en garzas; Drummond, 1987 en bobos).

Fratricidio

El fratricidio en aves puede ser de dos tipos: obligado y facultativo. En el primer caso, la cría menor de una nidada de dos siempre es eliminada poco después de eclosionar aún cuando el alimento es abundante, y sólo sobrevive si la cría mayor muere antes (p.e. Stinson, 1979 en aves rapaces). El segundo, es más estrictamente un mecanismo de reducción de la nidada ya que ocurre sólo cuando las condiciones ecológicas no son favorables (Mock *et al.*, 1991).

Con el fratricidio, el atacante al eliminar a su hermano obtiene más recursos y mejora así sus oportunidades de sobrevivencia y futura reproducción, es decir, aumenta su adecuación directa. Sin embargo, debido a que comparte la mitad de sus genes con la víctima, el eliminarlo significa disminuir la proporción de sus genes en la siguiente generación, es decir, reducir su adecuación inclusiva. Por lo tanto, en una situación ideal, el hermano mayor debiera favorecer el fratricidio cuando el costo de

mantener a su hermano menor, en términos de su propia adecuación, exceda el beneficio que éste le aporta a través de la adecuación inclusiva (Drummond, 1993).

Considerando estos costos y beneficios, Forbes (1991) desarrolló un modelo teórico para evaluar la importancia de la disponibilidad de alimento y del peso de la primera cría en la decisión de ésta de eliminar a su hermano menor. El modelo sugiere que una tasa baja y variable de suministro de alimento por parte de los padres favorece el fratricidio, sobre todo en etapas tempranas del crecimiento de las crías, en las que el costo de una alimentación deficiente es muy alto, y demuestra que a medida que las crías crecen, la cría mayor se vuelve más tolerante a tener deficiencias en su peso, por lo que la tendencia de cometer fratricidio disminuye.

En apoyo a este modelo, Drummond *et al.* (1986) encontraron que en el bobo de patas azules *Sula nebouxii* la muerte de segundas y terceras crías está asociada a un déficit del 20-25% en el peso potencial de sus hermanos mayores, es decir, que la reducción de la nidada en esta especie ocurre cuando el peso de la primera cría está por debajo de un umbral crítico. Los autores sugirieron que esta mortalidad diferencial podría ser consecuencia de un aumento en la agresión fratricida. Para poner a prueba esta hipótesis, Drummond y García-Chavelas (1989) impidieron experimentalmente a crías del bobo de patas azules, la ingestión de alimento durante un período de 48 hrs. Al comparar su conducta con la de las crías de un grupo control, encontraron que en condiciones de privación de alimento, la frecuencia de picotazos aumentó en forma desmedida (cerca del 200%), al tiempo que el peso de las crías disminuyó en un 20%. Cuando se reanudó la alimentación, las crías experimentales recuperaron peso y la agresión regresó a niveles basales, demostrando que en esta especie, la cantidad de alimento influye de manera reversible en la tendencia agresiva de las crías.

Además del anterior, existen otros estudios de campo en diferentes especies de aves que han demostrado una relación causal entre una insuficiente cantidad de alimento y un aumento en la agresión fratricida (p.e. Procter, 1975 en *Catharacta maccormick*; Newton, 1977 en *Buteo spp* y *Accipiter spp*). Con esta evidencia, Mock *et al.* (1987) propusieron que en especies fratricidas facultativas, la cantidad de alimento proporcionado por los padres influye de manera importante en la agresión que conduce a la muerte de alguna de las crías.

II. HORMONAS ESTEROIDES Y AGRESION

Cuando dos o más individuos compiten por un recurso que se encuentra limitado (p.e. alimento, parejas, territorios reproductivos) se generan conflictos de interés. Una forma de resolverlos es el establecimiento de relaciones de dominancia, en las que mediante interacciones agonísticas se generan prioridades de acceso a los recursos (Huntingford y Turner, 1987). La conducta agresiva, como parte de dichas interacciones, influye tanto en el establecimiento de las relaciones de dominancia como en su mantenimiento (Monagham y Glickmann, 1992). Las fuentes de control de dicha conducta son: por un lado los factores internos del individuo (sistema neuroendócrino), y por otro, el complejo de estímulos físicos y sociales que recibe del medio ambiente (Huntingford y Turner, 1987).

Las hormonas como parte integral del sistema neuroendócrino han sido elementos que han recibido especial atención en la investigación sobre la regulación de la conducta de los individuos. En particular, la idea de que las hormonas esteroides, principalmente la testosterona y sus metabolitos (estradiol y dihidrotestosterona), están involucradas en el control de la expresión de conductas agresivas ronda el campo de la endocrinología conductual desde hace más de 200 años. Experimentos clásicos realizados en diferentes vertebrados han demostrado que al remover los testículos, la frecuencia e intensidad de las conductas agresivas y sexuales disminuyen, mientras que si se administra a animales castrados testosterona o alguno de sus metabolitos, su actividad sexual se restaura y la frecuencia de desplantes agresivos se incrementa nuevamente (Huntingford y Turner, 1987). Asimismo, el hecho de que la madurez sexual y el consecuente aumento en los niveles de esteroides sexuales coincida temporalmente con un incremento en la tendencia agresiva en varios vertebrados, y el que las peleas entre machos o entre machos y hembras se incrementen notablemente durante la época reproductiva, sugieren que el control de la agresión pudiera depender de las mismas hormonas que controlan la fisiología de la reproducción: los esteroides sexuales (Huntingford y Turner, 1987).

Esteroides sexuales

Los esteroides sexuales son compuestos químicos derivados del colesterol producidos principalmente en las gónadas, la placenta de los mamíferos y la corteza de la glándula suprarrenal y transportados vía sanguínea hasta sus sitios de acción en órganos blanco. Su producción y secreción está regulada en parte por hormonas de la hipófisis que a su vez están reguladas por hormonas hipotalámicas (Fig. 1).

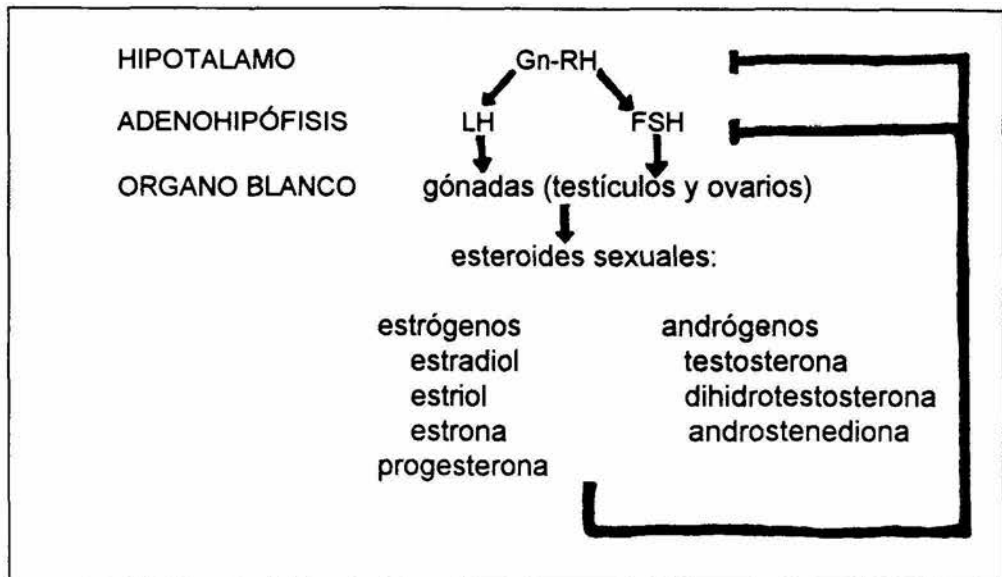


Fig.1 Regulación de la producción de esteroides por hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH), hormona luteinizante (LH), hormona folículo-estimulante (FSH). Las flechas puntiagudas indican un efecto estimulatorio y las romas uno inhibitorio.

Los esteroides sexuales están involucrados en el control de la reproducción en todos los vertebrados. A nivel fisiológico, participan en la espermatogénesis y en la oogénesis, en la diferenciación sexual, en la fertilización y en el desarrollo de caracteres sexuales secundarios. A nivel conductual, incrementan la frecuencia de conductas sexuales (cortejo y cópula) y de cuidado paterno, así como la frecuencia e intensidad de la agresión (Gorbman *et al.*, 1983).

Wingfield *et al.* (1987) han clasificado los efectos de los esteroides sexuales sobre la agresión en tres tipos: 1) indirectos, sobre la determinación de los caracteres sexuales secundarios utilizados en la comunicación de la agresión (p.e. color y patrón del plumaje en aves; glándulas productoras de feromonas en roedores); 2) efectos activacionales, en los que la presencia inmediata de la hormona incide en la frecuencia de las conductas agresivas y 3) efectos organizacionales, producidos por la presencia de las hormonas esteroides en un período crítico del desarrollo perinatal del organismo, influyendo de manera irreversible en la sensibilidad de los sistemas neurales involucrados en la agresión.

En cuanto al mecanismo mediante el cual la testosterona activa la agresión, Schlinger y Callard (1990) han propuesto un modelo: Al parecer, la conversión de testosterona a estradiol o dihidrotestosterona es un requisito indispensable, pues en codornices, la administración de bloqueadores de la 5-alfa reductasa o de la aromatasa (las enzimas que convierten la testosterona a dihidrotestosterona o estradiol, respectivamente) inhiben el efecto de la testosterona sobre la agresión (Archawaranon y Wiley, 1988). El estradiol formado se une a sus receptores y estimula la síntesis del complejo enzimático de la aromatasa en el área preóptica del hipotálamo. Simultáneamente, la testosterona y la dihidrotestosterona estimulan la formación de

receptores para estradiol. Así, el incremento en los niveles de aromatasa y en los receptores a estradiol contribuye a una mayor sensibilidad y responsividad a estos esteroides. Algunas de las consecuencias de la unión del estradiol a su receptor son, a corto plazo, la activación de circuitos neuronales, y a un plazo más largo, la inducción de sinaptogénesis en los sistemas neurales responsables de la expresión de la agresión. Hasta la fecha, se tienen identificadas en mamíferos, algunas de las áreas del cerebro que pudieran estar implicadas, entre ellas: area preóptica, septum lateral, arquiestriado y paleostriado. En ratas, las lesiones en estas zonas suprimen los efectos de los esteroides sobre la agresión (Albert *et al.*, 1989), mientras que las inyecciones de esteroides *in situ*, por el contrario, aumentan la conducta agresiva (Bean y Conner, 1978; Vergues *et al.*, 1988).

Esteroides sexuales y agresión en aves

Los estudios sobre la relación hormonas-agresión en aves se han llevado a cabo en diversas especies y en una variedad de contextos, incluyendo jerarquías de dominancia tanto en cautiverio como en el campo, encuentros territoriales, estados reproductivos e interacciones interespecíficas (Harding, 1983). Sin embargo, al revisar la literatura referente a este tema podemos percibir que existe un sesgo en tanto que la mayoría de los estudios se han hecho con individuos adultos, por lo que el papel de las hormonas en la conducta de individuos jóvenes es muy poco conocida.

A pesar de que hay pocos experimentos de ablación y terapia reconstitutiva en aves, los resultados son consistentes en cuanto a que en todas las especies estudiadas, la conducta agresiva disminuye en animales castrados y regresa a niveles normales después de un tratamiento con testosterona (Collias, 1950; Harding, 1983).

Con respecto a la relación entre esteroides sexuales y agresión en un contexto reproductivo, se ha observado una correlación entre las fluctuaciones anuales de los niveles de andrógenos y la conducta agresiva, alcanzando un punto máximo al inicio de la temporada reproductiva cuando los machos pelean por territorios y parejas. Una vez establecidos los límites territoriales, cesan las peleas y los niveles de testosterona disminuyen (Wingfield y Ramenofsky, 1985). Algunos estudios de campo demuestran que los implantes de testosterona ocasionan en los machos un aumento en la agresión territorial (p.e. Silverin, 1980 en *Ficedula hypoleuca*; Watson y Parr, 1981 en logópodos rojos). Se ha propuesto que el incremento en la secreción de andrógenos al inicio de la temporada reproductiva se debe tanto a factores ambientales (cambio en el fotoperíodo), como a las interacciones entre individuos (Wingfield y Farner, 1980). En palomas y gorriones, por ejemplo, la sola presencia de una hembra induce un aumento en los niveles de testosterona (O'Connell *et al.* 1981; Wingfield, 1985).

Uno de los primeros estudios sobre el efecto activador de los andrógenos en la conducta agresiva en aves fue el realizado por Allee *et al.* (1939), quienes observaron un incremento en la agresividad de gallinas subordinadas al implantarles propionato de testosterona. Este aumento en la agresión no resultaba necesariamente en un ascenso

en la jerarquía ya establecida, pero sí en un mayor éxito en encuentros agonísticos con gallinas "desconocidas" de otras parvadas.

Moss *et al.* (1979) intentaron revertir la relación de dominancia en logópodos rojos implantando individuos subordinados con propionato de testosterona. El tratamiento ocasionó un incremento inmediato en la agresión pero la inversión de la dominancia no ocurrió sino hasta 3 meses después. Ramenofsky (1985) encontró un patrón similar en la codorniz japonesa; los subordinados tratados con testosterona atacaron a los dominantes más frecuentemente que los controles, pero sólo el 18% de los individuos logró revertir la dominancia. La misma tendencia fue observada por Searcy y Wingfield (1980) en un estudio con tordos charreteros *Agelaius phoeniceus*. Estos resultados demuestran que los niveles elevados de testosterona facilitan la conducta agresiva, pero no son suficientes para contrarrestar los efectos de experiencias previas y del condicionamiento social (Rohwer y Rohwer, 1978; Ramenofsky y Gorbman, 1980).

En un estudio con codornices, Ramenofsky (1984) evaluó la importancia de los niveles hormonales previos a un encuentro agonístico en el desempeño de los contrincantes. Concluyó que: 1) En individuos sin experiencia agonística previa, la testosterona aumenta la habilidad para pelear de un individuo, pero no necesariamente predice el desenlace del encuentro; 2) La correlación directa entre los niveles circulantes de testosterona y/o sus metabolitos y la frecuencia de agresión sólo se da al principio del establecimiento de relaciones agonísticas (los ganadores tienen niveles más altos que los perdedores). Posteriormente, las interacciones agonísticas no requieren de niveles permanentemente elevados de testosterona, sino que éstas se mantienen mediante factores aprendidos socialmente (Wingfield, 1985); 3) En individuos con experiencia, la evaluación del estatus y la habilidad para pelear del contrincante controlan la conducta agresiva en mayor medida que los niveles circulantes de testosterona.

En grupos socialmente estables, los niveles circulantes de testosterona son pobres estimadores del estatus de los individuos. En general, se encuentra una correlación entre los niveles circulantes de testosterona y el rango jerárquico de un individuo en situaciones en las que las relaciones de dominancia son inestables, es decir, cuando se han modificado experimentalmente o cuando apenas se están estableciendo de modo natural. Durante estos períodos, la expresión de conductas agresivas por un individuo puede ser definitiva en la adquisición de un alto rango en la jerarquía. Ramenofsky (1985) ha propuesto que es entonces cuando la testosterona influye directamente en el aumento de dichas conductas.

La hipótesis del reto (Challenge hypothesis) propuesta por el grupo de John Wingfield (1990) resume las ideas anteriores y propone que durante situaciones inestables, en las que el individuo percibe un reto a su condición privilegiada, los niveles circulantes de testosterona tendrán una correlación con la elevada frecuencia e intensidad de la agresión. Otros factores como inercia social, reconocimiento individual y estatus, determinarán las interacciones agonísticas más estables, en las que la agresión es menor (Wingfield *et al.*, 1990).

Los resultados que se desprenden del cúmulo de experimentos realizados en las últimas dos décadas sugieren que la relación hormonas-agresión no es tan directa

como se pensaba en un principio, ya que la agresión, como toda conducta social, es contexto-dependiente, influida por la especie, sexo, estado nutricional, metabolismo y experiencia de los individuos, así como del contexto social y medio ambiente en los que se lleva a cabo (Wingfield *et al.*, 1987).

Efecto de encuentros agonísticos en las hormonas esteroides

La mayoría de los estudios acerca de la relación entre hormonas y agresión en situaciones de competencia se han enfocado a dilucidar los mecanismos mediante los cuales las hormonas afectan la conducta. Sin embargo, dicha relación es bidireccional. Los resultados de estudios con mamíferos demuestran que la experiencia de una interacción agonística afecta por sí misma el perfil endócrino de un individuo (Leshner, 1980).

Tras un encuentro agonístico, tanto los individuos ganadores como los perdedores muestran un incremento en sus niveles de corticosterona (y presumiblemente de ACTH (hormona adrenocorticotrópica)), siendo el efecto mucho más marcado en los perdedores que en los ganadores. Aún después de varios encuentros, los animales derrotados siguen respondiendo a las amenazas de otros animales con un incremento en los niveles de corticosterona (Bronson y Eleftheriou, 1964; Brain, 1980; Shuurman, 1980). La explicación más obvia del significado fisiológico de estos cambios hormonales es que ellos son el resultado del estrés que experimentan los animales durante un encuentro agonístico y, dado que generalmente una derrota significa un estrés mayor, la respuesta es más aguda en los animales perdedores (Leshner, 1981). Esto se refleja en la hipertrofia de las glándulas suprarrenales de los individuos subordinados, como se ha reportado en ratones Southwick y Bland, 1959; Flickinger, 1961, 1966 en gallos; Fretwell, 1969 en juncos; Murton *et al.*, 1971 en palomas.

Bronson *et al.* (1973) estudiaron en ratones el efecto de las experiencias agonísticas en los niveles circulantes de las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Encontraron que tanto la experiencia de una victoria o de una derrota disminuyen los niveles de hormonas gonadotrópicas (FSH y LH) aunque el efecto es más dramático y de mayor duración después de una derrota. En general, al inicio de un encuentro agonístico se observó en los contrincantes un aumento en sus niveles de testosterona, lo cual, posiblemente contribuía a que la agresión se intensificara. Al término del encuentro, los niveles se mantienen elevados en los ganadores y disminuyeron en los perdedores (Bronson *et al.*, 1973; Sachser y Prove, 1984).

Leshner (1980) en su "hipótesis de retroalimentación conductual", propone que los cambios hormonales ocurridos durante un encuentro agonístico afectan tanto la conducta inmediata del individuo como la respuesta a experiencias similares en un futuro. Para poner a prueba esta hipótesis, Leshner realizó una serie de experimentos con ratones en los que impidió experimentalmente la respuesta del eje hipófisis-suprarrenal tras una situación de competencia y evaluó los efectos en el patrón de conductas agonísticas posteriores. Los ratones con niveles controlados de corticosterona no disminuyeron su agresión aun después de varias derrotas, y se

mostraron sumisos mucho después que los animales control, retardando así el establecimiento de relaciones de dominancia. Por el contrario, los animales en los que se acentuó la respuesta suprarrenal, inyectando corticosterona después de haber sido derrotados, mostraron un aumento en la conducta sumisa (Leshner, 1983). Estos resultados demuestran que el aumento en los niveles circulantes de corticosterona en los individuos derrotados facilita la expresión de conductas sumisas subsecuentes.

En contraste con lo anterior, se ha documentado en ratones que tanto la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) como los glucocorticoides influyen en la conducta agonística de un individuo (Brain, 1980; Leshner, 1983). Los incrementos abruptos de ACTH provocan un incremento en la agresión, presumiblemente mediante un aumento de glucocorticoides (Brain y Evans, 1973; Leshner, 1975; Heller, 1978, 1979). Sin embargo, un tratamiento crónico de ACTH produce una disminución en la agresión mediante mecanismos directos en el sistema nervioso central, posiblemente como resultado de cambios en la cantidad de neurotransmisores en regiones específicas del cerebro (Moyer, 1976; Teledgy, 1982). Por lo tanto, diferentes patrones de secreción de una misma hormona conducen a resultados conductuales opuestos.

Leshner (1980) propone a nivel general, que las hormonas suprarrenales son capaces de modificar dos conductas que normalmente varían en sentidos opuestos al alterar el nivel de excitación del individuo. La percepción de los estímulos que provocan tanto agresión como sumisión se agudiza, generando un estado de responsividad mayor. Así, dependiendo del tipo de estímulo que se presente, el individuo se comporta agresivo o sumiso.

III. ESTRÉS

Los individuos están expuestos frecuentemente a una serie de situaciones adversas (cambios climáticos, escasez de alimento, presencia de un competidor o depredador, etc.) que representan un reto al equilibrio interno u homeostásis en el que normalmente se encuentran. La respuesta de estrés provee al animal con un mecanismo para contender con estas situaciones y reestablecer el equilibrio (Siegel, 1980).

Tras la percepción de un estresor, que puede ser un insulto físico, como el hambre o el dolor, o un insulto psicológico, como la competencia social o la expectación del dolor, se estimulan paralelamente los sistemas endócrino y nervioso (Fig. 2).

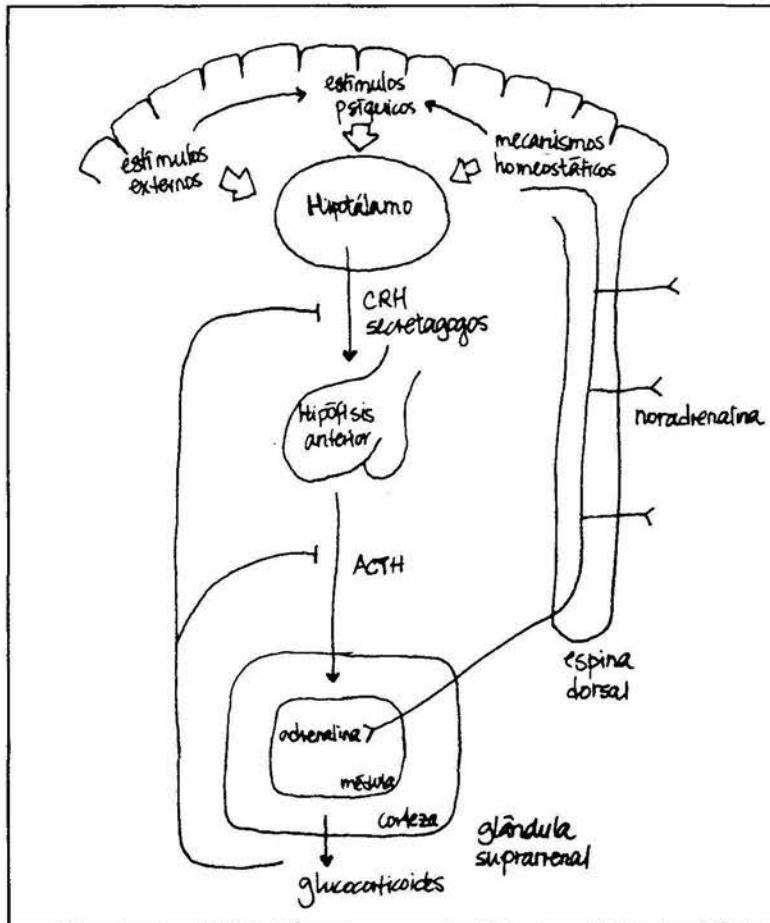


Fig.2 Respuesta neuroendócrina del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal a diversos estresores. Las flechas puntiagudas indican un efecto estimulador y las romas uno inhibitorio. Abreviaturas: CRH (hormona liberadora de corticotropina), ACTH (hormona adrenocorticotrópica).

Primeramente, el cerebro al percibir el estresor induce en segundos la liberación de adrenalina de las terminaciones simpáticas de la médula suprarrenal y de noradrenalina de las proyecciones simpáticas del resto del cuerpo, lo que ocasiona un

un alza inmediata en la presión sanguínea y de la glucosa en sangre, y un aumento en el tono muscular y la excitabilidad nerviosa. Este primer esfuerzo del organismo para combatir al estresor fue denominado por Cannon "la respuesta de lucha o huida" (fight or flight response) (Siegel, 1980).

Poco después, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en combinación con una serie de secretagogos que estimulan a la adenohipófisis e inducen la liberación de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), la cual finalmente induce la secreción de glucocorticoides (principalmente corticosterona) por la glándula suprarrenal. Trabajos recientes sugieren que esta cascada de eventos es potencialmente más complicada, pues si bien todos los estresores desencadenan un aumento en glucocorticoides, a nivel molecular, el patrón de hormonas (secretagogos) liberados por el hipotálamo es diferente para cada tipo de estresor (Sapolsky, 1992). Los efectos metabólicos de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal están encaminados principalmente a tratar de cubrir la demanda energética durante la fase de resistencia al estresor. Estos son, un incremento en la movilización de fuentes de energía de reserva mediante la glicólisis, glicogenolisis, proteólisis y lipólisis, y la producción *de novo* de glucosa a expensas de proteína muscular (gluconeogénesis) (Siegel, 1980).

En situaciones de crisis, muchas de las funciones no esenciales del organismo se suprimen en espera de mejores tiempos. De acuerdo con esta lógica, muchos de los procesos anabólicos se abaten durante la respuesta de estrés. La reproducción, una de las funciones más costosas del organismo, es incompatible con las circunstancias de emergencia por lo que la secreción de las hormonas involucradas en la fisiología y conducta reproductivas (GnRH, FSH, LH y hormonas esteroides) se inhibe por acción directa de los glucocorticoides. Asimismo, el crecimiento y la regeneración de tejidos se ven afectados y la actividad del sistema parasimpático se detiene. El sistema inmune se deprime y los mecanismos de percepción del dolor se suprimen (Sapolsky, 1992).

Los cambios neuroendócrinos que conforman la respuesta de estrés permiten la adaptación fisiológica y conductual del organismo a situaciones de crisis a corto plazo. Sin embargo, cuando el estresor permanece por un tiempo prolongado (estrés crónico), aparecen los efectos nocivos para el organismo. En tal caso, la respuesta de estrés puede ser tan dañina como el propio estresor. Algunos de los efectos patológicos son: hipertensión crónica con el subsecuente debilitamiento de las paredes vasculares, daño al músculo cardíaco, úlceras gástricas, inhibición del crecimiento, pérdida del peso corporal, miopatías producidas por la degradación de proteínas para obtener energía extra, "castración psicológica", anovulación, alteraciones en las capacidades reproductivas, inhibición de la calcificación de los huesos, debilitamiento y fatiga, involución del tejido linfático, inmunosupresión, degeneración de las neuronas del hipocampo en cerebro con posibles efectos en la capacidad de aprendizaje y memoria y alteración de las conductas alimenticias y agresivas (Siegel, 1980; Sapolsky, 1992).

En presencia prolongada de un estresor, la médula suprarrenal aumenta su capacidad para secretar catecolaminas al incrementar las concentraciones de la

enzima limitante en la síntesis de las mismas, y la corteza suprarrenal (sitio donde se sintetizan los glucocorticoides) aumenta de tamaño (hipersuprarrenalemia) (Sapolsky, 1992). Sin embargo, en algunos casos, cuando el organismo se habitúa a una situación estresante en particular, la producción de hormonas suprarrenales disminuye, aunque la capacidad de responder a un estímulo nuevo se mantiene intacta (Sapolsky, 1992). En otros casos, cuando el organismo es sometido repetidamente al mismo estrés, la regulación negativa del sistema se altera y se da una hipersecreción de glucocorticoides aun en ausencia del estresor (Selye, 1976).

A pesar de que todos los individuos sometidos a situaciones estresantes muestran un patrón de respuesta similar, existe variabilidad individual en cuanto a la magnitud de la respuesta. Diferentes vidas medias de ACTH en sangre, distinto número de receptores a glucocorticoides, diferencias en la tasa de perfusión de la glándula suprarrenal, por ejemplo, son entre muchos otros, algunos de los mecanismos que pudieran explicar dichas diferencias (Levine *et al.*, 1989). Además de estas variables fisiológicas, existen factores psicológicos que modulan en gran medida el grado de respuesta a una situación estresante, y pueden incluso desencadenar una respuesta en ausencia de un desequilibrio homeostático (Selye, 1976). Estudios elegantes en mamíferos han demostrado que algunos de estos factores son la falta de control, de predictibilidad y de salidas a la frustración, siendo la existencia de una discrepancia entre las expectativas y la realidad el común denominador a todos ellos (Henry y Stephens, 1977; Sapolsky, 1992).

Acerca del efecto del estatus social y las interacciones sociales en la respuesta de estrés, se ha demostrado que en jerarquías de dominancia estables, los rangos jerárquicos no se modifican. Los individuos dominantes tienen buen control y predictibilidad y tienen además la posibilidad de desahogar su frustración con individuos de menor jerarquía, por lo que presentan niveles menores de corticosterona que los subordinados y en consecuencia tienen menos riesgo de sufrir los efectos nocivos de los glucocorticoides (p.e. Bowman *et al.*, 1978; Kaverne, 1979; Sapolsky, 1982 en primates; Bronson, 1978; Louch y Higginbotham, 1976; Shuurman, 1980 en roedores; Myhre *et al.*, 1981; Rohwer y Wingfield, 1981 en aves). En relaciones de dominancia inestables en cambio, esto es, cuando recién se están creando o cuando un nuevo individuo ingresa al grupo, las interacciones agonísticas y los niveles de agresión entre los miembros que se disputan los rangos más altos se elevan y se crea un estado generalizado de estrés. En esos casos, los individuos dominantes muestran glándulas suprarrenales más grandes y niveles mayores de glucocorticoides (corticosterona) que los subordinados (Sapolsky, 1992).

ESTRES EN AVES

Si bien, los procesos fisiológicos básicos de la respuesta de estrés son similares en mamíferos y aves, existen algunas diferencias taxonómicas en cuanto a la histología de la glándula suprarrenal y el patrón de secreción de hormonas (Holmes y Phillips, 1976). La secreción basal de corticosterona (principal glucocorticoide) en aves es menor que en los mamíferos, mientras que el contenido de catecolaminas en la glándula suprarrenal es mayor. Además, en aves parece haber menos control del hipotálamo sobre la hipófisis y menor regulación de ésta sobre la corteza suprarrenal (Siegel, 1980).

El estudio de la respuesta fisiológica y conductual al estrés en aves se ha visto enriquecido por investigaciones encaminadas a mejorar algunos aspectos de la crianza de aves para uso comercial. No es de extrañarse entonces, que en la mayoría de los estudios se utilice al gallo *Gallus domesticus* como modelo experimental. Estos trabajos han demostrado algunos de los efectos deletéreos de la secreción elevada de corticosterona asociada al estrés crónico. Por ejemplo, un incremento en la morbilidad y mortalidad resultado de la inmunosupresión celular y humoral (Siegel, 1985; Gross y Siegel, 1988); crecimiento deficiente y pérdida de peso (Bartov *et al.*, 1980); atrofia gonadal y supresión de la producción de huevo (Flickinger, 1966; Gross *et al.*, 1980; Williams *et al.*, 1985), entre otros. Además, se han reconocido algunas conductas como indicadoras de estrés: incremento en la atención, conductas estereotipadas, agresión elevada, canibalismo y duración prolongada de la inmovilidad tónica (Hill, 1983; Williams, 1984; Jones, 1987).

Desafortunadamente hay muy pocos estudios acerca de la fisiología del estrés en aves en condiciones naturales. Como ya se mencionó anteriormente, la mayoría de los trabajos reportan principalmente la respuesta al estrés en situaciones a las que con frecuencia están sometidas las aves en cautiverio: manipulaciones, restricción de agua y alimento, hacinamiento y competencia social.

Captura, manipulación e inmovilización

Algunos autores observan un aumento significativo en los niveles de corticosterona minutos después de la captura e inmovilización, regresando a niveles de precaptura de 20 minutos a 2 horas después (Beuving y Vonder, 1978; Juráni *et al.*, 1978; Freeman y Flack, 1980; Wingfield *et al.*, 1982; Broom *et al.*, 1986). Asimismo, hay varios reportes que demuestran que el sangrar a un animal ya sea con cánula o jeringa induce un aumento en los niveles de corticosterona (Bradley y Holmes, 1971; Beuving y Vonder, 1978; Harvey *et al.*, 1980).

Densidad de población

En gallos, situaciones de hacinamiento y alta densidad de población están asociados a niveles elevados de corticosterona e hipertrofia suprarrenal (Craig *et al.*, 1986). En gallinas, la producción de huevo disminuye a medida que se incrementa el

número de individuos en un grupo (Adams y Craig, 1985), y este efecto es más pronunciado en gallinas subordinadas (Cunningham y Van Tienhoven, 1983).

Perturbaciones sociales

El separar gallos jóvenes y mantenerlos aislados de sus compañeros resulta en un incremento de corticosterona observable a los 30 minutos posteriores a la separación (Gibbs y Ng, 1984). Asimismo, la introducción de individuos "desconocidos" a un grupo ya establecido constituye una fuente de estrés y ocasiona entre los miembros del grupo una elevación en los niveles de corticosterona. A una semana del nuevo ingreso, los niveles regresan a niveles basales (Williams *et al.*, 1977).

Dominancia social

En algunas especies se ha observado que los individuos subordinados presentan hipertrofia de la glándula suprarrenal (Flickinger, 1961; Fretwell, 1969; Murton *et al.*, 1971) y altos niveles basales de corticosterona (Rohwer y Wingfield, 1982). En otros estudios, sin embargo, no se han encontrado estas correlaciones (Siegel y Siegel, 1961; Williams *et al.*, 1977; Marsteller *et al.*, 1980; Cuninham *et al.* 1987; Mench y Ottinger, 1991), lo que sugiere que la respuesta de estrés se ve influida por otros factores además del rango social del individuo.

Privación de alimento

Aves de diferentes especies sometidas a ayunos de hasta 48 hrs. presentan un incremento importante en los niveles de corticosterona y ACTH durante las primeras 2 horas (Beuving y Vonder, 1978 en gallinas; Nir *et al.*, 1975, Freeman *et al.*, 1980 en gallos; Harvey *et al.*, 1980 en patos; Scott *et al.*, 1983 en codornices; Wingfield *et al.*, 1982 en gorriones).

Harvey y Klandorf (1983) observaron que cuando después de 48 hrs. de ayuno los pollos son realimentados, los niveles de corticosterona regresan a niveles basales en cuestión de minutos. El tiempo que los niveles de la hormona permanecen bajos es proporcional a la cantidad de comida ingerida; los pollos a los que se les permite ingerir alimento por tan solo unos segundos mantienen los niveles bajos menos tiempo que aquellos que se alimentaron libremente. Los pollos a los que únicamente se les permitió ver la comida o aquellos que fueron alimentados con material metabólicamente inerte (placebo), también suprimen momentáneamente la respuesta suprarrenal, pero pasados unos minutos, los niveles de corticosterona se elevan nuevamente (Harvey *et al.*, 1983). Estos interesantes resultados demuestran que la sola presentación de estímulos asociados a reforzamientos previos (alimentación), son suficientes para reducir inicialmente los niveles de corticosterona, mientras que la disminución definitiva parece depender de procesos metabólicos (Levine y Coover, 1976; Harvey *et al.*, 1983). Los mecanismos que controlan este condicionamiento neural se desconocen.

Rees *et al.* (1985) demostraron en un estudio con pollos que individuos previamente acostumbrados a ayunos moderados, muestran una respuesta suprarrenal atenuada a condiciones de restricción alimenticia severas.

Además del reconocido efecto estimulador de la privación y restricción de alimento en la actividad suprarrenal de las aves, una serie de estudios en el campo (Collias y Traber, 1951; Watson, 1970; Procter, 1975; Wiley y Harnett, 1979; Newton, 1977; Mock *et al.*, 1987; Drummond y García-Chavelas, 1989) y en cautiverio han identificado la agresión como una conducta frecuente en situaciones de escasez de alimento (Mench, 1988, 1991). Estos cambios en la conducta pudieran ser resultado de la sensibilización de los sistemas neurales implicados en la agresión por un balance hormonal característico de la respuesta de estrés (Moyer, 1976).

IV. BIOLOGIA DEL BOBO DE PATAS AZULES

El bobo de patas azules *Sula nebouxii* es un ave marina del orden de los pelicaniformes que habita exclusivamente en islas del Pacífico, reproduciéndose anualmente en colonias grandes.

La hembra pone de 1 a 3 huevos, los cuales tras 40 días de incubación eclosionan con una diferencia de tiempo promedio de 4 días. Este intervalo en la eclosión confiere a la cría mayor una ventaja en tamaño que se mantiene durante las primeras semanas de vida. Posteriormente, las segundas crías alcanzan en peso y tamaño a sus hermanos mayores de manera que al momento de abandonar el nido no hay diferencias entre ellas (Drummond *et al.*, 1991). En promedio las crías primeras crecen más rápido que las segundas, debido en parte a que los padres las alimentan más frecuentemente (Drummond *et al.*, 1986). Las crías son alimentadas por ambos padres, quienes les regurgitan trozos de sardinas y anchovetas predigeridas directamente en la boca (Nelson, 1978).

Durante los primeros días de interacción entre las crías, se establece entre ellas una relación de dominancia/subordinación. La agresión por parte de la cría mayor (dominante) consiste en picotazos y amenazas, a lo que la cría menor (subordinada) responde con posturas estereotipadas de sumisión. Generalmente la relación se mantiene estable durante los 4 meses de convivencia en el nido aun cuando debido al dimorfismo sexual invertido en esta especie, las hembras subordinadas lleguen a ser, alrededor de los 37 días de edad más pesadas que sus hermanos dominantes machos (Drummond *et al.*, 1991).

Cuando la cantidad de alimento proporcionada por los padres es insuficiente, la agresión por parte del hermano mayor se incrementa y ocasiona la expulsión del nido de la cría menor, quien muere por inanición o por ataques de adultos vecinos (Drummond y García-Chavelas, 1989). La muerte de segundas crías es más frecuente durante las primeras semanas de vida, pero se han observado casos de fratricidio en crías de hasta 86 días de edad (Drummond *et al.*, 1986).

La relativa facilidad con la que los nidos del bobo de patas azules se pueden manipular ha permitido conocer la influencia que el tamaño relativo y la experiencia tienen como determinantes próximos de la relación agonística entre hermanos. En peleas escaladas entre crías sin experiencia agonística previa, el tamaño relativo determina la relación de dominancia, la cría más grande se convierte en la dominante; cuando se enfrentan dos crías no familiares con la misma relación de tamaños que en su nido de origen, la subordinada más pequeña que la dominante, cada una se comporta de acuerdo a su experiencia previa: la dominante agresivamente y las subordinada, de manera sumisa; y finalmente, cuando se manipulan ambas variables y se enfrenta una cría dominante pequeña con una subordinada grande, generalmente la cría dominante mantiene su estatus a pesar de que la subordinada hace intentos por revertir la relación a su favor (Drummond y Osorno, 1992).

Endocrinología del bobo de patas azules

En una primera aproximación a la endocrinología de la conducta en crías de esta especie de aves, Ramos-Fernández (1993) evaluó la posibilidad de que las diferencias entre crías dominantes y subordinados en cuanto a la agresividad, sumisión y capacidad para pelear tuvieran un correlato hormonal. Para ello, determinó las concentraciones en plasma de cuatro hormonas esteroides: testosterona, dihidrotestosterona, estradiol y corticosterona en crías de diferentes edades: 10-20, 25-35 y 40-50 días, y diferentes estatus: únicas, dominantes y subordinadas.

Aun cuando la varianza entre individuos oscureció la interpretación de los datos, los resultados mostraron de manera general que en el suero de las crías del bobo de patas azules: 1) independientemente del sexo, edad o estatus del individuo, los niveles circulantes de testosterona y dihidrotestosterona están por debajo de 39 y 78 pg/ml, respectivamente; 2) los niveles circulantes de estradiol son similares a los de un individuo adulto, y aunque no hay diferencias significativas entre crías dominantes y subordinadas, los niveles de esta hormona son significativamente mayores en crías de nidadas de 2 y 3 crías que en crías únicas; 3) los niveles de corticosterona tienden a ser mayores en las crías subordinadas del grupo de 10-20 días de edad y 4) independientemente del tamaño de nidada o del estatus de las crías, los niveles circulantes de corticosterona disminuyen con respecto a su edad.

PLANTEAMIENTO E HIPÓTESIS DE TRABAJO

En los bobos de patas azules, a veces la primera cría elimina a su hermano durante las primeras semanas de vida. Algunos datos descriptivos demuestran que la muerte de segundas y terceras crías está relacionada con un crecimiento pobre de sus hermanos mayores, lo que sugiere que en esta especie, el fratricidio ocurre cuando las condiciones alimenticias son inadecuadas. Por otro lado, se ha comprobado que en situaciones de escasez de alimento, la agresión por parte de la cría dominante aumenta y se intensifica a medida que su peso disminuye, provocando la muerte de la cría subordinada.

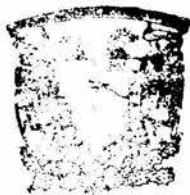
Aun cuando se ha propuesto que el hambre y el estado nutricional de la primera cría facilitan este aumento en la agresión, los detalles de los cambios fisiológicos que ocurren durante el ayuno, y que pudieran influir en los cambios conductuales observados, se desconocen.

Como se expuso en la sección anterior, varios estudios en aves han demostrado la influencia de las hormonas esteroides en la expresión de conductas agonísticas. En particular, la correlación que existe entre los niveles circulantes de testosterona y sus metabolitos y los niveles elevados de agresión.

En base a esta premisa, se decidió evaluar el perfil de las hormonas testosterona y estradiol durante un período de escasez artificial de alimento, para averiguar si el incremento en la agresión que se observa en las crías del bobo de patas azules en dichas circunstancias, tiene un correlato endócrino. Se propone como hipótesis particular que, *durante el período de privación de alimento, en el que ocurre el aumento abrupto en la agresión, las crías mostrarán un incremento en los niveles circulantes de testosterona y estradiol, y que al término de éste, cuando la agresión disminuye, los niveles de estas hormonas regresarán a los niveles de línea base.*

Por otro lado, se sabe que la respuesta fisiológica de los vertebrados a situaciones de estrés se caracteriza, entre otras cosas, por un incremento en los niveles de corticosterona. La escasez de alimento que advierten las crías en este estudio, representa una situación estresante por los efectos combinados del hambre y la frustración. Se predice entonces que, *los niveles de corticosterona de las crías aumentarán durante el período de inanición, y que una vez terminado el ayuno, es decir, eliminada la fuente de estrés, éstos regresarán a niveles basales.*

Finalmente, se intentará determinar si los factores sociales como el estatus individual o la presencia de un hermano, influyen en los cambios hormonales que experimentan las crías durante situaciones de escasez de alimento.



BIBLIOTECA
CENTRO DE ECOLOGIA

METODOS

Zona de estudio y sujetos experimentales

Los datos se obtuvieron en marzo de 1993, durante la temporada de anidación del bobo de patas azules en Isla Isabel (21°52'N, 105°54'W), una pequeña isla volcánica (1.3 x 1.7 km) a 28 km de la costa del estado de Nayarit en el Pacífico Mexicano.

Se utilizaron nidadas naturales que no hubieran sido sometidas a ninguna manipulación previa salvo un censo periódico en el que se registraron la fecha, el orden de eclosión y sobrevivencia de las crías. De los nidos disponibles durante el período de trabajo, se eligieron 27 nidadas dobles y 29 de crías únicas en donde la cría mayor tuviera de 15 a 20 días de edad, edad en que ocurre con frecuencia la reducción de la nidada (Drummond *et al.*, 1986). En los nidos donde no se tenía registro de eclosión, se estimó la edad de las crías en base a las curvas de crecimiento de primeras y segundas crías eclosionadas en el mismo rango de fechas de esta temporada.

Diseño experimental

Se indujo escasez artificial de alimento en 16 crías únicas y 13 nidadas dobles elegidas al azar, evitando la ingestión de alimento pero sin poner en riesgo la sobrevivencia de las mismas. El resto de las nidadas, 13 únicas y 14 dobles, sirvieron como grupos control.

A las 17:30 hrs. del primer día del experimento, siguiendo la técnica utilizada por Drummond y García-Chavelas (1989), se colocó a las crías del grupo experimental, una cinta adhesiva (Micropore) alrededor del cuello a la altura de la base del cráneo, procurando que quedara lo suficientemente justa y firme para evitar la expansión del cuello necesaria durante la ingestión de alimento, pero que permitiera la respiración y ventilación normal. Las crías permanecieron encintadas desde ese momento hasta las 17:30 hrs. del día 3, es decir, un total de 48 hrs. Durante el cuarto y último día del experimento, las crías se mantuvieron sin cintas para permitir su recuperación y evaluar la reversibilidad de los efectos del tratamiento. Por la mañana del día 2 se visitaron todos los nidos experimentales para verificar que las cintas estuvieran en su lugar y se sustituyeron en los casos en que fue necesario. Durante dichas visitas se encontraron en varias ocasiones, regurgitos de pescado en el suelo, señal indirecta de la efectividad de la cinta.

Las crías del grupo control no se sometieron a ninguna manipulación en cuanto a cintas se refiere, por lo que presumiblemente comieron normalmente durante los 4 días que duró el experimento.

Observación de conducta

En 9 de las nidadas dobles (4 controles y 5 experimentales), se tomaron registros conductuales durante los días 1, 3 y 4 del experimento, para corroborar que las crías bajo condiciones de privación de alimento mostraran el aumento en la agresión que observaron Drummond y García-Chavelas (1989) en un estudio previo en esta misma especie (ver Introducción).

Las observaciones se realizaron durante las horas de mayor actividad, de 06:00 a 11:00 hrs. y de 14:30 a 17:30 hrs., un total de 8 hrs. diarias para cada nidada, alternándose dos observadores cada 2 hrs. Al empezar la jornada de observación, las crías se marcaban en la cabeza y cuerpo con pintura vinílica de distinto color para facilitar su identificación. El observador se sentaba sin caseta de observación pero sin perturbar la colonia a una distancia del nido focal de al menos 5 mts., y con los criterios utilizados por Drummond *et al.* (1986), registraba para ambas crías las frecuencias absolutas de las siguientes pautas conductuales descritas por Nelson (1978):

picotazo: movimiento rápido de la cabeza con el pico abierto o cerrado de manera que éste pega contra la cabeza o cualquier parte del cuerpo de la otra cría.

grito: una cría vocaliza y la otra adopta o mantiene una postura sumisa.

postura sumisa: la cría voltea la cabeza bajando el pico.

Muestras de sangre

Al término de la jornada, es decir a las 17:30 hrs. de los días 1, 3 y 4 del experimento, se muestrearon todas las crías controles y experimentales, inclusive en las nidadas en las que se registró conducta. Para reducir los efectos de la manipulación en los niveles de corticosterona de las crías, todas las muestras se tomaron dentro de un tiempo límite de 5 min., desde la llegada del investigador al nido hasta la obtención de la misma. Una vez alejados los padres del nido, la cría se inmovilizaba dejándole un ala libre para la toma de sangre. De la vena cercana a la articulación se extrajeron con jeringas heparinizadas de 0.5 ml. a 1 ml. de sangre y se mantuvieron en una hielera con chillers™ hasta su procesamiento en el campamento. Antes de regresar a la cría al nido se verificaba que hubiera dejado de sangrar completamente. Una vez tomada la muestra, se procedía a pesar a la cría y de ser experimental, a poner o quitar la cinta según correspondiera.

Aproximadamente 2 hrs. después, las muestras se centrifugaron a 9000 rpm durante 8 min. Con una jeringa Hamilton, se separó el suero de la sangre coagulada y se congeló en tubos de polipropileno. Cada muestra rindió generalmente, la mitad de suero (250µl a 0.5ml.). Desde ese momento hasta su posterior análisis, los sueros se mantuvieron congelados.

Se agregaron 10µl de β-propiolactona al 3% a todas las muestras para poder importarlas a los E.U.A. y continuar el análisis en el laboratorio.

Peso

Todas las crías se pesaron diario a las 17:30 hrs. durante los 4 días que duró el experimento. Se metían en una bolsa y se registraba la lectura de las pesolas de 500 ± 5g o de 1000 ± 10g.

Sexado

A los 70 días de edad, se registraron peso y longitudes de pico y ulna de 35 crías incluídas en el experimento. Las 44 crías restantes no pudieron ser sexadas ya que 4 murieron antes de los 70 días y 40 no tuvieron seguimiento hasta esa edad. Debido al dimorfismo sexual en esta especie, a los 70 días, las distribuciones de las medidas de ulna de machos y hembras no se sobreponen entre sí, por lo que es posible determinar con alto grado de certidumbre, el sexo de las crías (Drummond *et al.*, 1991). Se utilizaron los datos de longitudes de ulna de la temporada de reproducción de 1989 para sexar a las crías (191-207 mm machos y 213-233 mm hembras).

Sobrevivencia de las crías

La conducta de los padres y las crías aparentemente se normalizó después del experimento, y no hubo evidencias de daños permanentes en la piel y plumas de las crías que tuvieron cinta durante 48 hrs. A los 70 días, se evaluó la sobrevivencia de 39 crías manipuladas (18 controles y 21 experimentales) comparándola con la de 26 crías no incluídas en ningún experimento y eclosionadas en fechas similares a las manipuladas. La comparación no reveló diferencias importantes entre la sobrevivencia de las crías manipuladas (89.7%), ya fuera controlés (77.7%) o experimentales (100%), y la de crías no manipuladas (92.3%).

Análisis de esteroides

Los ensayos hormonales se hicieron en el laboratorio de Endocrinología Comparada del Dr. John Wingfield en el Dpto. de Zoología de la Universidad de Washington, Seattle, E.U.A.

Los esteroides, testosterona (T), 17 β -estradiol (E) y corticosterona (C), se extrajeron del suero y se separaron mediante una cromatografía de partición en dos fases. Mediante un radioinmunoensayo específico para cada hormona, se determinaron las concentraciones de esteroides a partir de una sola muestra de suero (50-200 μ l), según el procedimiento reportado por Wingfield y Farner (1975).

1. Preparación de las muestras.

Debido a que el ensayo tiene una capacidad máxima de 48 muestras, fue necesario distribuir el total de las muestras en 4 ensayos.

De 75 μ l a 200 μ l de suero correspondiente a cada muestra se equilibraron a 4°C durante toda la noche, con cantidades traza de los esteroides que se iban a medir,

marcados con tritio, 2000 cpm/tubo de cada esteroide (10 pg/tubo para C, a.e.= 88.3 Ci/mmol; 5 pg/tubo para E, a.e.= 150 Ci/mmol y 5 pg/tubo para T, a.e.= 180 Ci/mmol; New England Nuclear Research Products). A partir de la cantidad de radioactividad total inicial en relación con la que se recuperó después de la extracción, se estableció un valor de recuperación para cada muestra. Dos tubos con agua destilada funcionaron como blancos. Un tubo con cantidades conocidas de esteroide "frío" (no radioactivo) (250 pg/tubo de T y E, 1000 pg/tubo de C) fungió como estándar y sirvió para calcular la variación interensayo.

2. Extracción.

A cada muestra se le agregaron 5 ml. de diclorometano (calidad reactivo ACS) previamente destilado, se agitaron y se incubaron 2 hrs. a temperatura ambiente. Después de la extracción con diclorometano, se evaporó con nitrógeno la fase inferior de cada tubo en un baño a 40°C. Los esteroides adheridos al fondo del tubo, se disolvieron en 1ml. de acetato de etilo (previamente destilado) en iso-octano (calidad nanogrado) al 10% (ae/i) (fase móvil).

3. Preparación de las columnas.

Las microcolumnas se empacaron en pipetas de 5 ml. Arriba, la fase de glicol, preparada con una mezcla de tierra de diatomeas: propilenglicol :etilenglicol en proporción de 6:3:3 peso:vol:vol. Abajo, la trampa de agua, una mezcla de tierra de diatomeas: agua destilada en proporción de 6:2 peso:volumen, que evita que las fracciones eluidas se contaminen con glicol. Antes de añadir la muestra que contiene los esteroides, las columnas se humedecieron con 8 ml. de iso-octano.

4. Separación.

La solución con los esteroides se pasó por las microcolumnas de la cromatografía de partición. Las variaciones en la polaridad de la fase móvil producen la solubilización diferencial de los esteroides. La testosterona se eluyó con 4 ml. de ae/i al 20%, después el estradiol con 4 ml. de ae/i al 40% y finalmente la corticosterona con 4 ml. de ae/i al 50%. Con este procedimiento, hay un solapamiento de menos del 3% entre las fracciones eluidas adyacentes.

5. Preparación para el RIA y recuperación.

Las soluciones del esteroide puro eluidas se evaporaron con nitrógeno en un baño a 40°C, y las fracciones correspondientes a T y E se redisolviéron en 0.550 ml. de amortiguador de fosfatos 0.1M con gelatina, pH 7.0 (PBSG), mientras que la fracción correspondiente a C se redisolvió en 1 ml. de PBSG. Se tomaron alícuotas pequeñas (0.1 ml. de T y E, 0.2 ml. de C) y se pusieron en líquido de centelleo para obtener los valores de recuperación para cada muestra.

6. Radioinmunoanálisis (RIA).

El radioinmunoanálisis específico (RIA) para cada hormona se realizó preparando al mismo tiempo los siguientes tubos por duplicado, que constituyen la curva patrón:

B1 (cuentas totales) = 0.3 ml. PBSG, 0.1 ml. de esteroide marcado (10,000 cpm/tubo; 50 pg/tubo para C, 25 pg/tubo para T y E), a este tubo no se añadirá la solución de carbón-dextrán en PBSG.

B2 (unión no específica o blanco) = 0.3 ml. PBSG, 0.1 ml. de esteroide marcado (10,000 cpm/tubo; 50 pg/tubo para C, 25 pg/tubo para T y E)

B3 (unión máxima o Bmax) = 0.2 ml. PBSG, 0.1 ml. de esteroide marcado, 0.1 ml. de solución de anticuerpo ajustada previamente a una unión máxima de 35-50% (para T, Wien Laboratories; para E, Arnel; para C, Endocrine Sciences).

S1-S9 (curva patrón) = 0.1 ml. PBSG (excepto para C), 0.1 ml. de una solución de esteroide diluída en serie de 500 pg/ml a 3.9 pg/ml en el caso de T y E, y de 2000 pg/ml a 15.6 pg/ml en el caso de C, 0.1 ml. de esteroide marcado, 0.1 ml. de la solución de anticuerpo.

Al mismo tiempo, 0.2 ml. (T y E) o 0.1 ml. (C) de cada solución de muestra problema, se combinaron por duplicado con 0.1 ml. de esteroide marcado y 0.1 ml. de solución de anticuerpo. Todos los tubos se incubaron por un mínimo de 12 horas a 4°C. Se agregaron a todos los tubos (excepto a B1) 0.5 ml. de una suspensión de carbón-dextrán en PBSG y después de 12 minutos se separó la fracción unida al anticuerpo de la fracción libre, centrifugando a 2000 rpm por 10 minutos. En ocasiones se requirieron dos rondas de centrifugación para cubrir todos los tubos, en cuyo caso, se preparó una curva patrón (B1 a S9) extra para la segunda centrifugación, para eliminar la posible variación entre centrifugaciones.

7. Conteo.

Todos los tubos del RIA y los de los valores de recuperación se vaciaron en frascos con 4.5 ml. de líquido de centelleo (omnifluor en tolueno 4 gr/lt), se dejaron equilibrar en la oscuridad toda la noche, y posteriormente se contó la radioactividad presente en un contador de centelleo (radiación beta).

Cálculo de la concentración de esteroides y validación del RIA

Para conocer la concentración de hormona presente en cada tubo de muestra problema, se trazó una curva patrón con los valores de B y S. Se promediaron los valores de cada par de tubos de B2 a S9 y de las muestras problema, el valor de B2 se restó a todos los promedios. Cada nuevo valor resultante se dividió entre el nuevo valor de B3. Con esto, se obtuvo el porcentaje de unión (B/Bo).

Los valores de B/Bo de S1 a S9 en escala lineal en las ordenadas se graficaron contra sus concentraciones estándar en escala logarítmica en las abscisas, se generó así una curva en la que los valores de B/Bo de las muestras problema pudieron ser leídos. Las curvas patrón para C, T y E se muestran en el Apéndice.

El valor de recuperación (Tabla 1) para cada muestra se obtuvo dividiendo las cuentas totales (aproximadamente 2000 cpm) entre 5.5 (5 para corticosterona) y dividiendo todas las cuentas de recuperación entre este valor.

La concentración final de esteroide presente en cada muestra se obtuvo mediante la siguiente fórmula, en la que se corrige la concentración de cada muestra leída en la curva patrón por su porcentaje de recuperación y por el volumen inicial de suero:

$$\text{Concentración en pg/ml} = \frac{\text{valor de la curva (pg)} \times 2.75}{\% \text{ recuperación (decimal)}} \times 1000 \mu\text{l suero}$$

Para corticosterona, la corrección por el volumen equivale a 10 en vez de 2.75.

El valor del blanco (ruido de fondo; Tabla 1) se obtuvo leyendo en la curva patrón, el valor de B/Bo de los tubos blancos (con agua únicamente) tratados como muestras desde el inicio de la purificación.

La sensibilidad de los ensayos que es la cantidad más pequeña de antígeno no marcado que puede ser detectado confiablemente (Tabla 1), se obtuvo del primer punto de la curva patrón en el que el valor de B/Bo \pm el intervalo de confianza al 95% era distinto del valor del blanco \pm ee.

La variación interensayo de una concentración estándar de esteroides no radioactivos (Tabla 1), se obtuvo multiplicando por 100 la desviación estándar de las determinaciones del tubo estándar y dividiendo este valor entre el promedio.

El 50% de unión es la dosis de la curva patrón en la cual el 50% de la radioactividad está unida al anticuerpo (B/Bo=0.5).

Tabla 1. Validación del radioinmunoanálisis específico para las distintas hormonas esteroides.

Hormona	% recuperación	blanco pg/ml	sensibilidad pg/ml	%variación interensayo	50 % unión pg/ml
Testosterona (T)	65.17 \pm 0.65 (171)	28 \pm 2.96 (14)	60 (6)	10.14 (5)	165 (6)
Estradiol (E)	60.54 \pm 0.48 (171)	29 \pm 0.60 (16)	60 (5)	3.04 (4)	600 (5)
Corticosterona (C)	81.70 \pm 0.55 (238)	70 \pm 3.57 (18)	100 (6)	12.90 (5)	760 (6)

Se muestran: $\bar{x} \pm ee$, (n)

Estos valores son similares a los reportados para esta misma especie por Ramos-Fernández (1993), lo que hace a los dos estudios comparables.

Análisis estadístico

Como resultado de la forma aleatoria de construir los grupos, al inicio del experimento se tenían grupos controles y experimentales con ligeras diferencias basales en peso, frecuencia de picotazos y niveles de corticosterona (en ningún caso significativas). Los efectos de estas diferencias se minimizan al hacer comparaciones entre cambios en las variables de interés antes y después del tratamiento, como sugiere el diseño experimental "pretest-post-test control group design" (Cambell y Stanley, 1966).

Se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad de los datos. Al no diferir éstos significativamente de una distribución normal, se utilizaron pruebas paramétricas para el análisis de los datos no transformados.

Para determinar el efecto del estatus en los niveles basales y finales de corticosterona, se utilizaron las concentraciones absolutas de la hormona en plasma.

Se calcularon las diferencias en peso y niveles de corticosterona del día 1 (nivel basal) al día 3, del día 3 al día 4 y del día 1 al día 4 para cada una de las crías de los grupos control y experimental. Posteriormente, dichas diferencias se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA) de dos vías; con estatus y tratamiento como factores, estatus con 3 niveles: dominantes, subordinadas y únicas y tratamiento con 2 niveles: control y experimental.

Cuando el efecto de algún factor resultó significativo, se hicieron múltiples comparaciones pareadas mediante la prueba post hoc de Scheffé (Lindman, 1991; Zar, 1984). Se calcularon el estadístico F y la probabilidad de error tipo I (p) asociada a cada F. Para todas las pruebas se usó un intervalo de confianza global del 95% ($\alpha = 0.05$).

La muestra de nidos en donde se registró conducta fue muy pequeña para hacer cualquier prueba estadística, por lo que únicamente se reporta estadística descriptiva.

Para los análisis estadísticos se utilizó el programa SAS 6.02 (por SAS Institute Inc., Cary NC, USA, 1985).

RESULTADOS

Sexo

En la muestra de crías en las que se identificó el sexo (ver Métodos), los niveles basales de corticosterona tendieron a ser mayores en las hembras ($\bar{X}=8.92$ ng/ml, $ee=1.87$, $n=18$) que en los machos ($\bar{X}=4.93$ ng/ml, $ee=1.20$, $n=17$) aun cuando las diferencias no fueron significativas ($F_{1,29}=2.64$, $p=0.11$).

No hubo diferencias significativas en el peso basal de crías de diferente sexo ($F_{1,30}=1.11$, $p=0.29$), machos ($\bar{X}=386.3$ grs, $ee=28.3$, $n=17$) y hembras ($\bar{X}=424.7$ grs, $ee=28.1$, $n=18$).

Peso

Al inicio del experimento, las crías subordinadas ($\bar{X}=269.0$ grs, $ee=13.56$, $n=27$) eran significativamente más ligeras que las dominantes ($\bar{X}=400.3$ grs, $ee=19.2$, $n=27$) y que las únicas ($\bar{X}=483.3$ grs, $ee=15.6$, $n=29$) (estatus: $F_{2,77}=29.88$, $p<<0.001$, Scheffé $p<0.05$), no habiendo diferencias entre estas últimas (Scheffé $p>0.05$).

El aumento en el peso de las crías control entre los días 1 y 3 fue del 13% en únicas, 17% en dominantes y 27% en subordinadas (Fig. 3). En experimentales, el de crías únicas fue sólo del 2%, mientras que las dominantes y subordinadas registraron pérdidas del 6% y 11% respectivamente (Fig. 3). A las 48 hrs. de haber colocado la cinta, el peso de las crías en los tres grupos experimentales, disminuyó significativamente respecto al de sus controles (tratamiento: $F_{1,77}=79.42$, $p<<0.001$), independientemente del estatus ($F_{2,77}=0.73$, $p>0.1$) y sin interacción significativa (tratamiento/estatus: $F_{2,77}=3.38$, $p>0.05$).

Diferencia de peso al día 3

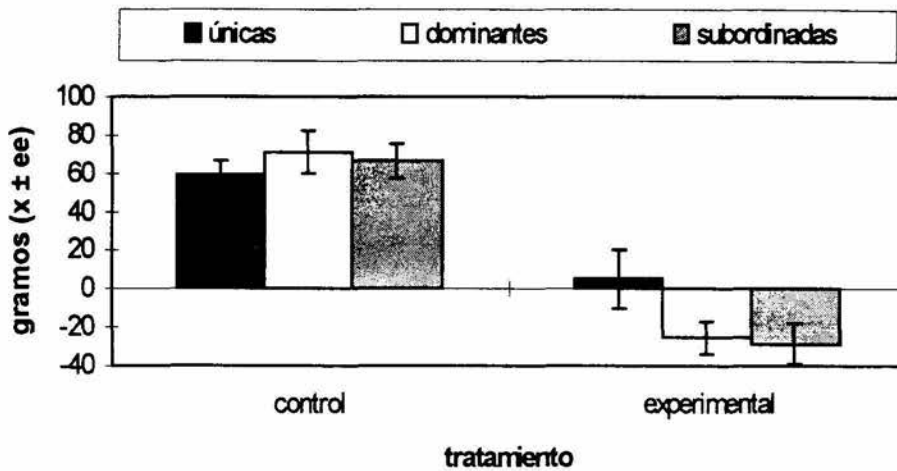


Fig.3 Efecto del ayuno experimental en el peso de las crías. Los valores se obtuvieron restando el peso basal al peso absoluto del día 3 para cada cría. Controles: únicas (n=13), dominantes (n=14), subordinadas (n=14); experimentales: únicas (n=16), dominantes (n=13), subordinadas (n=13).

Una vez removida la cinta de las crías experimentales, el aumento de peso del día 3 al día 4 respecto al peso basal fue del 24% en únicas, 28% en dominantes y 21% en subordinadas mientras que en los grupos control fue del 12% en crías únicas, 11% en dominantes y 15% en subordinadas. Las crías experimentales aumentaron de peso significativamente más que las crías controles en las mismas 24 hrs (tratamiento $F_{1,76}=23.55$, $p < 0.001$), con un efecto del factor estatus ($F_{2,76}=4.65$, $p=0.012$), pero sin interacción significativa (tratamiento/estatus $F_{2,76}=1.89$, $p > 0.1$; Fig. 4). En el grupo experimental, el incremento de las crías subordinadas fue significativamente menor que el de dominantes y únicas (Scheffé $p < 0.05$; Fig. 4).

Diferencia de peso del día 3 al día 4

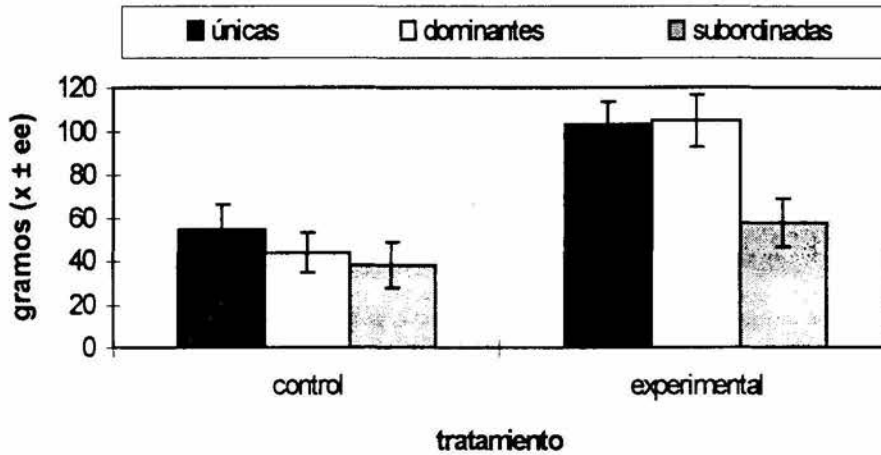


Fig.4 Aumento de peso durante 24 hrs. después de removida la cinta en las crías experimentales. Los valores se obtuvieron restando el peso absoluto del día 3 al peso absoluto del día 4 para cada cría. Tamaños de muestra igual que en la figura 1.

A pesar de que las crías en los grupos experimentales permanecieron 48 hrs. sin ingerir alimento, durante el día 4 las crías dominantes y únicas se recuperaron hasta alcanzar a sus controles (dominantes $t=2.47$, $gl=25$, $p=0.52$; únicas $t=0.45$, $gl=26$, $p=0.65$; Fig. 5). Las crías subordinadas sin embargo, aun habiendo registrado un incremento en peso, permanecieron significativamente por debajo de sus controles ($t=4.70$, $df=25$, $p<0.0001$; Fig. 5); (tratamiento: $F_{1,76}=18.74$, $p<0.0001$; estatus: $F_{2,76}=7.59$, $p<0.001$; tratamiento/estatus: $F_{2,76}=4.66$, $p<0.05$).

El aumento neto de peso durante los 4 días que duró el experimento fue en los grupos control del 26% en crías únicas, 29% en dominantes y 42% en subordinadas, y para los grupos experimentales del 26% en crías únicas, 22% en dominantes y 10% en subordinadas.

Aumento de peso del día 1 al día 4

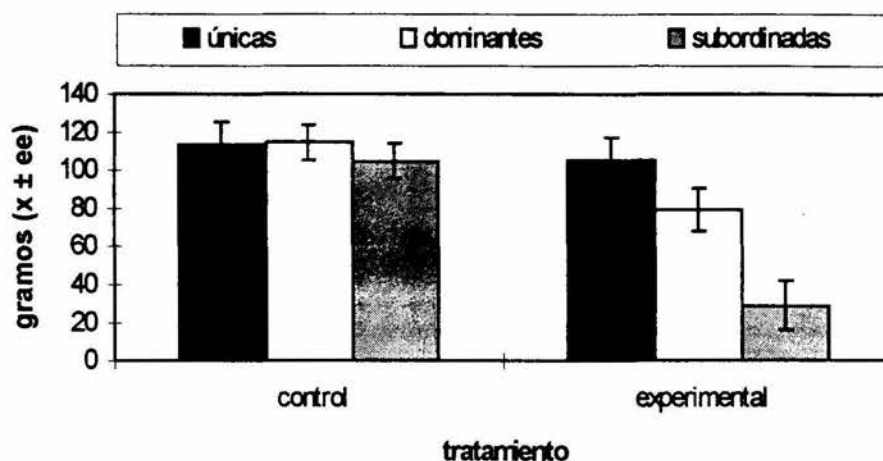


Fig.5 Ganancia neta en el peso de las crías al final de 4 días de experimento. Los valores se obtuvieron restando el peso basal al peso absoluto final para cada cría. Tamaños de muestra igual que en la figura 1.

Hormonas

Los niveles circulantes de testosterona y 17β -estradiol en todas las crías independientemente del tratamiento, estatus o día del experimento fueron indetectables, es decir, menores que 0.06 ng/ml, que es la sensibilidad del radioinmunoensayo para estas dos hormonas (ver Métodos).

Los niveles de corticosterona en cambio, fueron detectables en todas las muestras analizadas. El nivel basal de corticosterona de las crías subordinadas fue en promedio el doble que el de crías dominantes y únicas ($F_{2,69}=3.41$, $p<0.05$; Scheffé $p<0.05$; Fig. 6).

Niveles basales de corticosterona

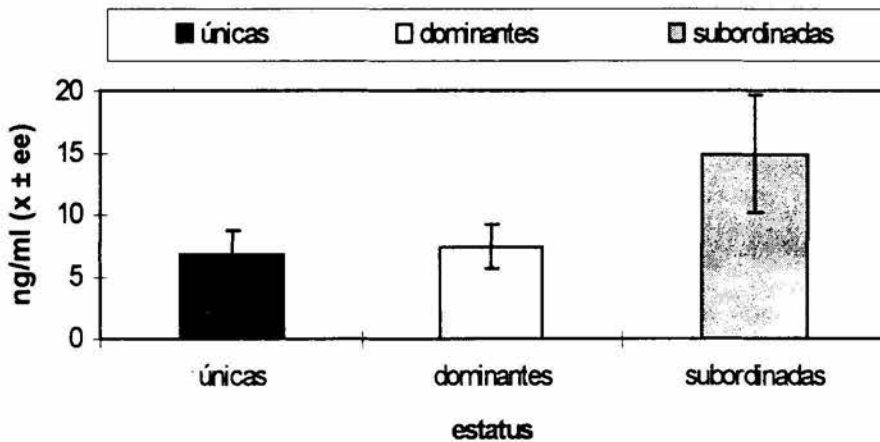


Fig.6 Al no haber diferencias significativas en las concentraciones basales de corticosterona de grupos control y experimental, los valores se agruparon por estatus. Únicas (n=23), dominantes (n=26), subordinadas (n=26).

Los niveles de corticosterona en las crías experimentales fueron significativamente más altos al día 3 que al día 1 ($F_{1,35}=10.72$, $p<0.01$) independientemente del estatus ($F_{2,35}=3.07$, $p=0.059$) y sin interacción significativa (día/estatus: $F_{2,35}=0.05$, $p>0.1$), mientras que los niveles del día 1 y 3 de todas las crías control fueron parecidos (día: $F_{1,31}=0.29$, $p>0.1$; estatus: $F_{2,31}=0.80$, $p>0.1$; día/estatus: $F_{2,31}=0.5$, $p>0.1$) (Fig. 7).

El cambio en los niveles de corticosterona del día 1 al día 3, estuvo muy cerca de ser significativamente mayor en el grupo experimental que en el control (tratamiento: $F_{1,66}=3.76$, $p=0.056$), independientemente del estatus de las crías ($F_{2,66}=0.13$, $p>0.1$) y sin interacción significativa (tratamiento/estatus: $F_{2,66}=0.417$, $p>0.1$; Fig. 7).

Diferencia en los niveles de corticosterona al día 3

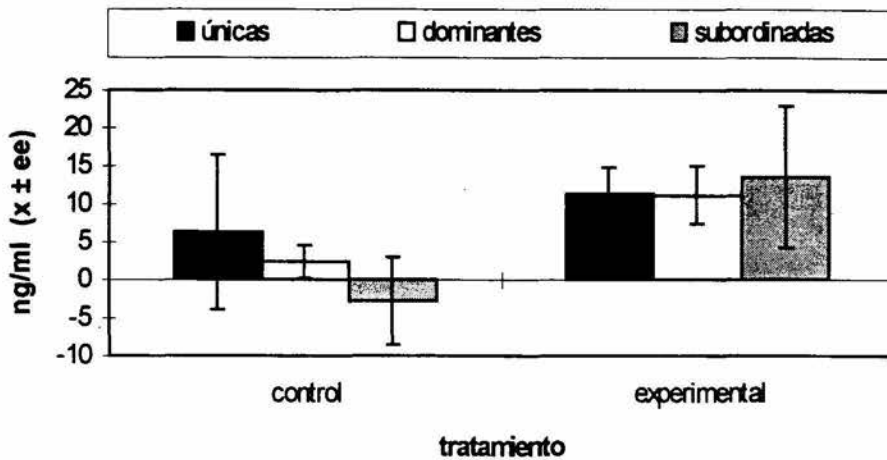


Fig.7 Efecto del ayuno experimental en los niveles de corticosterona de las crías. Los valores se obtuvieron restando las concentraciones basales a las concentraciones del día 3 para cada cría. Controles: únicas (n=10), dominantes (n=13), subordinadas (n=11); experimentales: únicas (n=12), dominantes (n=13), subordinadas (n=13).

Los niveles de corticosterona en las crías experimentales fueron significativamente más altos al día 3 que al día 4 ($F_{1,71}=15.18$, $p<<0.001$), independientemente del estatus ($F_{2,71}=2.85$, $p>0.05$) y sin interacción significativa (día/estatus: $F_{2,71}=0.29$, $p>0.1$), mientras que los niveles del día 3 y 4 de todas las crías control fueron parecidos (día: $F_{1,64}=0.73$, $p>0.1$; estatus: $F_{2,64}=0.37$, $p>0.1$; día/estatus: $F_{2,64}=0.59$, $p>0.1$).

Durante las siguientes 24 hrs. después de removida la cinta, los niveles circulantes disminuyeron significativamente más en las crías experimentales que en las crías control (tratamiento: $F_{1,64}=5.92$, $p<0.01$), independientemente del estatus ($F_{2,64}=0.05$, $p>0.1$) y sin interacción entre los dos factores (tratamiento/estatus: $F_{2,64}=0.73$, $p>0.1$; Fig. 8).

Diferencias en niveles de corticosterona del día 3 al día 4

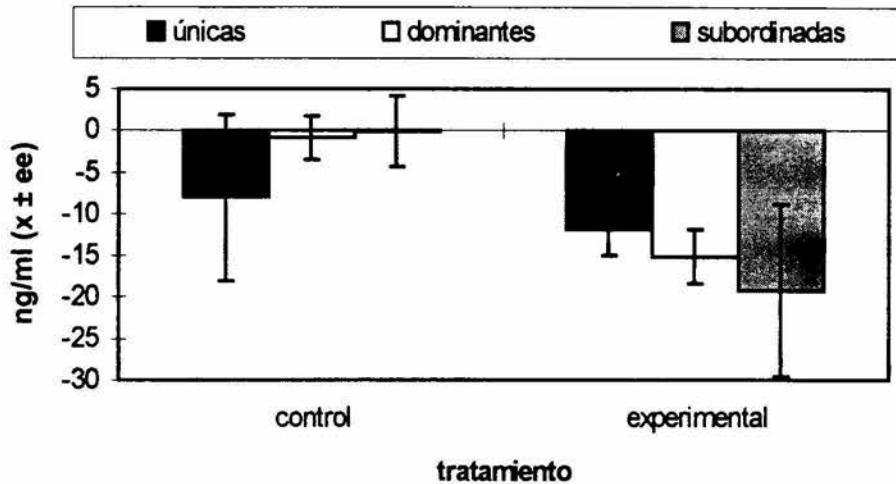


Fig.8 Cambio en los niveles de corticosterona de las crías 24 hrs. después de removida la cinta. Los valores se obtuvieron restando las concentraciones del día 3 a las concentraciones del día 4 para cada cría. Controles: únicas (n=10), dominantes (n=13), subordinadas (n=10); experimentales: únicas (n=12), dominantes (n=13), subordinadas (n=12).

Al comparar las diferencias en los niveles finales de corticosterona respecto al día 1, no se encontraron diferencias significativas debidas al tratamiento ($F_{1,65}=0.35$, $p>0.1$), o al estatus ($F_{2,65}=0.019$, $p>0.1$). A pesar de que las crías experimentales incrementaron en promedio hasta un 130% sus niveles de corticosterona durante el ayuno, la diferencia del inicio al final del experimento no fue mayor que la reportada para los controles.

En ambos grupos (controles y experimentales), las crías subordinadas terminaron con niveles de corticosterona mayores a los de crías únicas y dominantes (estatus: $F_{2,65}=2.98$, $p=0.05$; Scheffé $p<0.05$), manteniendo la diferencia observada en el nivel basal (Fig.9).

Niveles de corticosterona al día 4

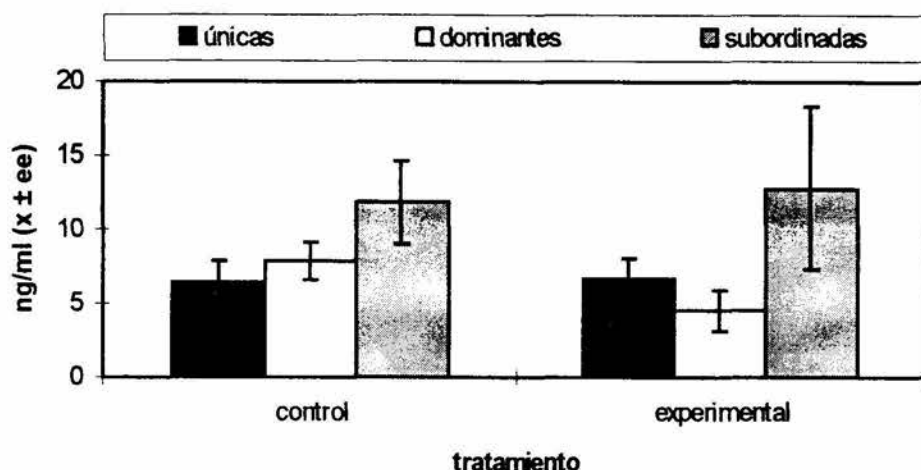


Fig.9 Concentraciones finales de corticosterona. Controles: únicas (n=11), dominantes (n=13), subordinadas (n=12); experimentales: únicas (n=12), dominantes (n=13), subordinadas (n=12).

Conducta

En las 9 nidadas en las que se registró conducta, la cría mayor picoteó más frecuentemente a su hermano menor que viceversa, reflejando una clara dominancia. En muchas ocasiones los picotazos o gritos fueron dirigidos hacia el hermano menor cuando éste solicitaba alimento, se acercaba a alguno de los padres o iba a ser alimentado, aunque también se observó esta conducta aun cuando no ocurriera ningún evento relacionado con la alimentación. A pesar de que siempre estaba al menos uno de los padres presente, no hubo evidencias de que éstos intervinieran para mitigar la agresión entre las crías. Las crías experimentales parecían pasar más tiempo despiertos solicitando alimento que las crías controles, quienes dormían la mayor parte del tiempo.

Las crías experimentales no manifestaron ningún comportamiento que revelara que la cinta en el cuello les lastimaba. Durante los intentos de alimentación por parte de los padres, las crías experimentaban incomodidad y frustración al no poder tragar el alimento, tirándolo al suelo después de varios intentos, mas una conducta similar se observa normalmente cuando los padres proporcionan trozos de pescado tan grandes que las crías no los pueden tragar (Drummond y García-Chavelas, 1989).

En la figura 10, se muestran las frecuencias de picotazos de crías dominantes control y experimentales durante 3 días del experimento. Al día 3, los dominantes encintados registraron en promedio un aumento en la frecuencia de picotazos 3 veces

mayor que los controles. El incremento promedio en la frecuencia de picotazos del día 1 al día 3 fue del 700% en las crías dominantes experimentales, mientras que en las dominantes control fue del 148%. Una vez removida la cinta, la frecuencia de picotazos disminuyó respecto al día 3 dos veces más en los dominantes experimentales que en sus controles.

Al contrario de lo que se esperaba, las crías dominantes del grupo control, también incrementaron la frecuencia de picotazos al día 3 y disminuyeron al día 4, con un patrón similar pero menos marcado que las crías experimentales. Nuestra muestra elegida al azar, contenía un nido en el que la agresión entre las crías estaba por encima del promedio, lo que ocasionó un aumento en la varianza del grupo control.

Las frecuencias de picotazos de las crías subordinadas en ambos grupos, se mantuvieron en un nivel bajo y sin mayores cambios durante todo el experimento (controles: día 1, $\bar{X}=1.0$ picot./8hrs, $ee=1.0$, $n=4$; día 3, $\bar{X}=1.75$, $ee=1.03$, $n=4$; día 4, $\bar{X}=1.0$, $ee=0.40$, $n=4$; experimentales: día 1, $\bar{X}=0.2$ picot./8hrs, $ee=0.2$, $n=5$; día 3, $\bar{X}=1.2$, $ee=0.73$, $n=5$; día 4, $\bar{X}=1.8$, $ee=1.56$, $n=5$).

En general, aun cuando la varianza en esta ocasión fue mayor, el patrón conductual observado es muy similar al reportado por Drummond y García-Chavelas (1989).

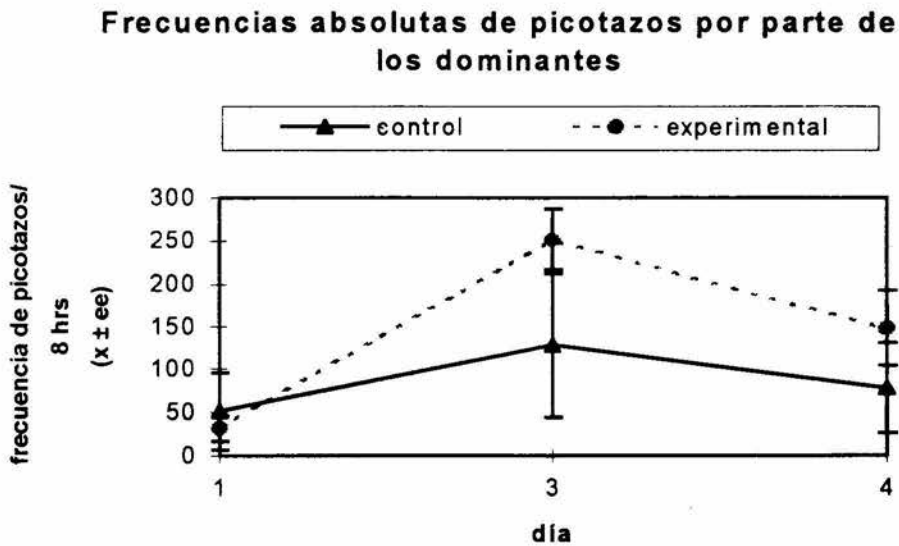


Fig.10 Efecto de la escasez de alimento en la agresión de las crías dominantes. Las cintas se colocaron en las crías experimentales al final del día 1 y se removieron al final del día 3 (ver Métodos). No se grafican las frecuencias de las crías subordinadas puesto que éstas se mantuvieron bajas y sin cambio durante todo el experimento (ver texto). Controles ($n=4$), experimentales ($n=5$).

DISCUSION

Conducta

Bajo condiciones de escasez de alimento, la agresión por parte de las crías dominantes se elevó considerablemente, alcanzando niveles potencialmente fatales para las crías subordinadas. Al reanudarse la alimentación, la agresión disminuyó y las frecuencias de picotazos tendieron a regresar a un nivel basal. Estos resultados, aun cuando no fueron significativos, muestran el mismo patrón que el reportado por Drummond y García Chavelas (1989). Los resultados de ambos estudios, indican que la respuesta conductual del bobo de patas azules a situaciones de escasez de alimento puede ser reversible si la disponibilidad de alimento mejora.

Es importante notar que las frecuencias de picotazos de las crías subordinadas del grupo experimental se mantuvieron bajas y sin cambios a lo largo del experimento, aun cuando estuvieron bajo las mismas condiciones de ayuno que las crías dominantes. Al parecer, la intimidación por parte de un hermano mayor y el efecto del condicionamiento social previo de las crías subordinadas para comportarse de manera sumisa frente a una cría dominante, tienen más peso que el efecto que la escasez de alimento pudiera tener sobre la tendencia agresiva de las mismas.

Se puede argumentar que el incremento en la agresión que se observó en las crías dominantes encintadas se debió, en buena medida, a la frustración que experimentaron cada vez que sin conseguirlo trataban de ingerir los trozos de pescado que tenían en la boca. Ciertamente en este experimento no se contó con un control adecuado que pudiera descartar esta posibilidad. Sin embargo, el estudio de Drummond y García Chavelas (1989) ofrece evidencias para suponer que la frustración ocasionada por la presencia de la cinta no es suficiente *per se* para provocar un aumento en la agresión. Estos autores encontraron que en crías mayores a los 40 días de edad, las frecuencias de picotazos se mantuvieron en un nivel basal durante las 24 hrs. posteriores a la colocación de la cinta y que el incremento sustancial en la agresión no se dio sino hasta 36 hrs. después. Asimismo, observaron que en el grupo control en el que las crías se mantuvieron encintadas a lo largo del experimento excepto durante los intentos de alimentación, las frecuencias de picotazos permanecieron sin cambios.

Peso

El tratamiento experimental para simular una situación de escasez de alimento probó dar resultado en tanto que las crías con cintas alrededor del cuello no pudieron ingerir el alimento que les proporcionaban sus padres y en consecuencia perdieron peso durante el tiempo que se mantuvieron encintadas. Una vez que se eliminó este

impedimento, las crías que habían estado bajo condiciones de ayuno registraron un aumento importante en su peso, logrando recuperar en tan sólo 24 hrs. el peso que habían perdido durante dos días de ayuno. Las crías únicas y dominantes alcanzaron incluso valores semejantes a los de sus controles mientras que el peso de las crías subordinadas permaneció por debajo del de crías de su mismo estatus en el grupo control. El hecho de que las crías subordinadas no pudieran recuperarse hasta alcanzar el peso de sus controles pone de manifiesto las diferencias en cuanto al acceso al alimento que se sabe existen entre las crías del bobo de patas azules. Se ha demostrado que en condiciones normales, las crías subordinadas reciben alimento menos frecuentemente y en menor cantidad que las crías dominantes (Drummond *et al.*, 1986; Guerra, 1994). Por otro lado, se sabe que bajo condiciones experimentales de escasez de alimento los intentos de alimentación de los padres a favor de las crías dominantes aumentan significativamente, acentuando la alimentación diferencial entre las crías (Drummond y García-Chavelas, 1989).

En este estudio en particular no se registró el número de alimentaciones ni cuantificó la cantidad de comida proporcionada a cada cría. Sin embargo, el hecho que después del período de escasez de alimento, las crías dominantes hayan aumentado de peso significativamente más que las crías subordinadas (7% en promedio), implica que las primeras consumieron mayor cantidad de alimento que estas últimas, y demuestra que efectivamente, las crías dominantes lograron monopolizar el alimento ofrecido por los padres, posiblemente, al inhibir mediante picotazos, los intentos de alimentación de sus hermanos menores.

En condiciones naturales de escasez de alimento, esta alimentación diferencial, en combinación con el aumento en la agresión por parte de las crías dominantes, podría eventualmente resultar en la muerte de las crías subordinadas.

Testosterona y estradiol

La hipótesis del reto desarrollada por Wingfield *et al.* (1990) propone que los niveles circulantes de testosterona y sus metabolitos tienen una correlación con la frecuencia e intensidad de la agresión cuando estas últimas son altas, y que otros factores como la experiencia y el condicionamiento social determinan las interacciones agonísticas más estables, en las que la agresión es menor. Por lo tanto, se esperaba que el aumento abrupto en la agresión que se observa durante situaciones de escasez de alimento en las crías del bobo de patas azules tuviera un correlato con los niveles de testosterona y estradiol. Es por eso que, aun cuando se sabía por un estudio previo que los niveles basales de testosterona eran indetectables en crías de 15-25 días de edad (Ramos-Fernández, 1993), se esperaba que durante el período de ayuno en el que la agresión se intensifica, los niveles de estas dos hormonas se incrementaran por arriba de los niveles técnicamente detectables.

El hallazgo de que las concentraciones de testosterona y estradiol permanecieron menores que el límite inferior de sensibilidad de los radioinmunoanálisis utilizados, aun en condiciones en las que el incremento en la frecuencia e intensidad de la agresión fue muy evidente, no apoya la hipótesis inicial de este trabajo.

Se puede descartar con razonable certeza que estos resultados obedezcan a problemas técnicos, ya que los resultados de la validación del radioinmunoensayo que se obtuvieron son muy similares a los reportados en la literatura para esta metodología (Wingfield y Farner, 1975; Ramenofsky, 1984). Posiblemente, la ausencia de testosterona y estradiol se debió a que las gónadas de las crías de 15 a 20 días de edad (edades de los sujetos experimentales), eran incapaces de producir esteroides debido a que se encontraban en un estado inmaduro de desarrollo. Con miras a evaluar esta posibilidad, se analizaron al microscopio de luz preparaciones de tejido gonadal de crías de 15-20 días de edad (3 ejemplares de cada sexo). El análisis reveló la presencia de células de tipo esteroideogénico en el tejido de machos y hembras, indicando que las gónadas de las crías a las edades estudiadas eran potencialmente capaces de producir esteroides. Estos resultados descriptivos, sin embargo, no se pueden tomar como evidencia contundente a favor de la funcionalidad metabólica de las gónadas.

Aceptando con la debida cautela que es posible la producción de testosterona y estradiol en los sujetos experimentales, se pueden proponer algunas explicaciones por las que no se encontraron niveles detectables de estas dos hormonas en el presente estudio. Una posibilidad es que estas hormonas circulen en concentraciones extremadamente bajas y que el método que se utilizó no haya sido lo suficientemente sensible para detectarlas (ver Martin, 1980; Balthazart, 1983). Otra opción es que estos esteroides se encuentren localizados preferentemente en sus sitios de acción en regiones específicas del cerebro y que las muestras de sangre tomadas de la circulación periférica no permitieron evidenciarlos (ver Hutchison, 1974; Balthazart, 1983). Por otro lado, podría ser que la secreción de estas hormonas estuviera sujeta a variaciones circádicas y que la hora del día a la que se tomaron las muestras no haya coincidido con los picos de secreción (Ottinger y Brinkley, 1979; Wilson y Sharp, 1975; Gledhill y Follet, 1976). De manera alternativa, cabe la posibilidad de que el aumento en los niveles de estas dos hormonas se haya dado de manera momentánea durante los despliegues de agresión, regresando a niveles indetectables una vez pasada la "ráfaga" de picotazos (burst effect) y que al haber muestreado a las crías tan sólo una vez y al término de la jornada, se hayan perdido esos momentos críticos de secreción (ver Harding, 1983).

Finalmente, el hecho de no haber encontrado una correlación entre el aumento en la agresión y los niveles de testosterona y estradiol apoya la propuesta de Wingfield *et al.* (1987) en cuanto a que en relaciones de dominancia ya establecidas, las interacciones agonísticas no requieren de niveles permanentemente elevados de testosterona sino que éstas se mantienen mediante factores aprendidos socialmente.

Corticosterona

El haber encontrado que en el bobo de patas azules las crías subordinadas tienen niveles basales de corticosterona significativamente mayores que las crías dominantes y únicas, confirma la tendencia observada por Ramos-Fernández (1993) y concuerda con los resultados de Rohwer y Wingfield (1981) que demuestran este mismo patrón en parvadas de gorriones adultos (*Zonotrichia querula*). Es probable que en las crías subordinadas del bobo de patas azules, los niveles altos de corticosterona reflejen el estrés que significa el ser frecuentemente agredido y hostigado por un hermano dominante. De manera especulativa se sugiere que, durante las etapas tempranas del desarrollo de las crías y del establecimiento de la relación de dominancia entre hermanos, estos niveles altos de corticosterona pudieran facilitar la expresión de conductas sumisas y de esta manera jugar un papel importante en el entrenamiento de las crías subordinadas como perdedoras generalizadas.

La exposición prolongada de las crías subordinadas a niveles elevados de corticosterona pudiera tener consecuencias fisiológicas desfavorables y potencialmente repercutir en su adaptación a largo plazo. Así lo demuestran una serie de estudios en pollos (*Gallus domesticus*) en los que se han asociado niveles elevados de corticosterona a: estados de inmunosupresión (Siegel, 1985), incremento de la morbilidad y mortalidad (Gross y Siegel, 1988), disminución en la tasa de crecimiento y pérdida de peso (Bartov *et al.*, 1980), alteraciones de algunos aspectos fisiológicos y conductuales de la reproducción (Edens, 1983; Ottinger y Mench, 1989; Williams *et al.*, 1985), cese en la producción de huevos (Flickinger, 1966) y abandono del nido (Silverin, 1986).

Todas las crías experimentales, independientemente del estatus, mostraron a las 48 hrs. de ayuno un aumento significativo en los niveles de corticosterona. Estos resultados coinciden con los de otros estudios que han demostrado que la privación de alimento constituye una fuente de estrés que estimula la actividad adrenocortical en crías de varias especies de aves (Brown, 1961; Raszyk y Herzig, 1975; Freeman, 1976; Constantin *et al.*, 1977; Beuving y Vonder, 1978; Freeman *et al.*, 1980; Harvey *et al.*, 1980; 1983). El aumento en los títulos de esta hormona forma parte de la respuesta fisiológica de los vertebrados para tratar de reestablecer la homeostásis y cubrir mediante vías metabólicas alternas, (gluconeogénesis y glucógenolisis) el déficit de glucosa que se genera durante el ayuno (Gorbman *et al.*, 1983; Harvey y Klandorf, 1983). La pérdida de peso que registraron las crías durante el tiempo que permanecieron sin ingerir alimento refleja la movilización y utilización de sustancias de reserva de los tejidos graso y muscular para satisfacer la demanda energética del organismo una vez que las reservas de glucógeno en hígado se han terminado (Blem, 1990). Asimismo, es posible que el aumento sustancial en peso que lograron las crías únicas y dominantes durante las 24 hrs. posteriores al ayuno, se haya debido en parte, a la hiperfagia mediada por corticosterona que se observa después de un período de escasez de alimento (p.e. Harvey y Klandorf, 1983 en pollos; Bouillon y Berdanier, 1981 en ratas).

En este estudio no se midió la concentración de glucosa en sangre en las crías bajo condiciones de ayuno, sin embargo, es muy probable que tras 48 hrs. de no ingerir alimento, los niveles de glucosa hayan estado por debajo de los niveles normales (p.e. Freeman *et al.*, 1980). Este estado de hipoglicemia pudo haber contribuido al aumento en la agresión, como lo sugieren otros estudios en los que se demuestra una asociación entre los niveles de glucosa y la expresión de conductas agresivas (p.e. Davis, 1978; Moyer, 1976 en ratas adultas).

Una vez removida la cinta, las crías reanudaron su alimentación y los niveles de corticosterona disminuyeron hasta alcanzar valores semejantes a los registrados al inicio del experimento. Harvey *et al.* (1983) han sugerido que la supresión en la secreción de corticosterona que se observa en pollos después de ingerir alimento está mediada en parte por un mecanismo glucostático. En este estudio en particular, es posible que además de lo anterior, el eliminar la cinta que impedía la ingestión de alimento haya disminuido el estrés de la manipulación experimental y con ello los niveles de corticosterona.

Es interesante notar que al término del experimento los niveles circulantes de corticosterona no difirieron significativamente de los niveles iniciales. Esto demuestra la reversibilidad de la respuesta fisiológica al estrés y la capacidad del sistema de restablecer la homeostásis una vez que el estresor ha sido eliminado. La ventaja de terminar pronto con la respuesta al estrés radica en que se evitan los efectos detrimentes de una exposición prolongada a los glucocorticoides (Sapolsky, 1992).

Como lo advierten otros estudios similares en aves (Beuving y Vonder, 1978; Harvey *et al.* 1980), es posible que al tomar las muestras de sangre se hayan provocado, debido al estrés de la manipulación, cambios artificiales en los niveles circulantes de corticosterona, y que los niveles normales de esta hormona sean en realidad menores que lo que aparentan. Sin embargo, este hecho no modifica sustancialmente los resultados del presente estudio, ya que todas las crías de los grupos control y experimental se manipularon de igual manera y las comparaciones entre grupos se hicieron en términos de diferencias.

Hay evidencias acerca de que el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal se activa en respuesta a estímulos adversos, así como a situaciones de frustración en las que lo experimentado por los individuos no coincide con sus expectativas (failure of expectancy) (p.e. Levine, 1976 en ratas; Harvey *et al.*, 1983 en pollos). Las crías experimentales en este estudio enfrentaron diferentes situaciones que, además del hambre provocada por el ayuno, pudieron haber contribuido al aumento de la corticosterona: las cintas ajustadas alrededor del cuello, la frustración de no poder tragar los trozos de pescado que los padres les depositaban en la boca y de no recibir la recompensa metabólica aun cuando el estímulo visual y olfatorio de la comida estaba presente, y en el caso específico de las crías subordinadas, el aumento en la agresión en forma de picotazos por parte de sus hermanos dominantes. Debido a la ausencia de

controles adecuados, es difícil dilucidar con este diseño experimental, hasta qué punto el aumento en los títulos hormonales se debió a cada una de las fuentes de estrés antes mencionadas, sin embargo, es posible realizar en un futuro experimentos encaminados a esclarecer lo anterior.

El hecho de que las crías bajo condiciones artificiales de escasez de alimento hayan registrado un aumento significativo en los niveles circulantes de corticosterona independientemente del estatus y de la presencia o ausencia de un hermano, y que la magnitud de la respuesta suprarrenal haya sido similar en crías únicas, dominantes y subordinadas, demuestra que el contexto social no influyó en la respuesta hormonal a condiciones experimentales de ayuno. Estos resultados contrastan con los obtenidos en primates por Manogue *et al.* (1975) y Sapolsky (1982), que demuestran diferencias en las respuestas suprarrenales de dominantes y subordinados a situaciones de estrés.

Varios estudios en diferentes especies de vertebrados han encontrado una correlación entre los niveles elevados de corticosterona y la expresión de conductas sumisas (Huntingford y Turner, 1987). En el presente estudio, las crías dominantes bajo condiciones de privación de alimento registraron en promedio niveles de corticosterona 132% por arriba de su nivel basal. Sin embargo, a pesar de los títulos elevados de esta hormona, las crías dominantes no registraron un aumento en su conducta sumisa, sino que por el contrario, mostraron un incremento en la agresión.

Los experimentos en ratones llevados a cabo por Leshner (1979, 1981), demuestran que un tratamiento con dosis elevadas de corticosterona no es suficiente para volver a un individuo sumiso, sino que se requiere además que éste haya sufrido la experiencia de una derrota. Con base en lo anterior, se deduce que los niveles elevados de corticosterona que se dieron durante el ayuno no repercutieron en la conducta sumisa de las crías dominantes, debido a que en ellas no existía el antecedente de una derrota, pues dada su condición social, rara vez reciben agresiones de parte de sus hermanos menores (Drummond *et al.* 1986).

Como ya se mencionó, en los vertebrados normalmente la corticosterona se ha relacionado con la expresión de conductas sumisas, sin embargo, existen algunos reportes en mamíferos que demuestran que esta hormona puede a su vez estar vinculada con la agresión (Brain y Evans, 1977; Heller, 1979). Leshner (1983) ha propuesto que la capacidad de la corticosterona de afectar estas dos conductas opuestas estriba en alterar el nivel de excitación del individuo, de manera que éste se torna más susceptible y responsivo a los estímulos externos.

En este estudio, el incremento en la agresión de las crías dominantes bajo condiciones de escasez de alimento coincidió temporalmente con el aumento en sus niveles de corticosterona. De acuerdo con la propuesta de Leshner (1983), este aumento en la agresión pudo haberse debido a que durante el ayuno las crías se encontraban en un estado de excitación elevado, y por lo tanto más propensas a responder agresivamente al estímulo de un hermano subordinado solicitando alimento frecuentemente. El hecho de que las crías subordinadas no hayan aumentado su tendencia agresiva aun cuando también registraron niveles elevados de corticosterona

se puede explicar en base a que éstas por el contrario, percibían los ataques de un hermano dominante como un estímulo para comportarse de manera sumisa.

De ser válido lo anterior en condiciones naturales, el aumento en los niveles de corticosterona durante períodos de insuficiencia de alimento facilitaría la agresión por parte de la cría dominante y, eventualmente la eliminación de la cría subordinada. La ventaja de que la corticosterona modulara en cierta medida la tendencia agresiva de las crías radica en que, como lo muestran los resultados de este estudio, esta hormona es sensible a las fluctuaciones en la disponibilidad de alimento, por lo que sus efectos en la conducta serían reversibles si las condiciones alimenticias dejaran de ser críticas.

Siguientes experimentos

Para determinar hasta qué punto el aumento de corticosterona que mostraron las crías durante el ayuno en esta investigación se debió al hambre *per se* y hasta qué punto se debió a los efectos de la presencia de la cinta, sería conveniente comparar la respuesta suprarrenal a situaciones de ayuno de crías encintadas con la de crías hambreadas de otra manera, por ejemplo, evitando que su padres las alimenten.

Asimismo, sería interesante ver qué sucede con los niveles de corticosterona cuando se infunde una solución glucosada y con nutrientes (p.e. vía parenteral) mientras se mantienen encintadas para evitar la alimentación normal. Tal vez de esta manera se podrían diferenciar los efectos de la hipoglucemia de los de la frustración sobre el aumento en los niveles de esta hormona y sobre la conducta agresiva.

Por otro lado, se pueden llevar a cabo experimentos de manipulación hormonal para tratar de averiguar si los cambios en la corticosterona contribuyen al aumento en la tendencia agresiva de las crías del bobo de patas azules. Se podrían implantar crías con corticosterona para reproducir un estado hormonal similar al que se da durante el ayuno, y comparar su conducta con la de crías sin tratamiento experimental. Adicionalmente, habría que averiguar si en ausencia del estímulo de un hermano dominante las crías subordinadas con implantes de corticosterona se comportan agresivamente contra una cría de su mismo estatus o si por el contrario, dicha hormona refuerza su tendencia sumisa.

Sería relevante examinar si la diferencia que se observa en los niveles de corticosterona entre crías de diferente estatus se mantiene en individuos adultos o si desaparece después de que las crías abandonan el nido. Asimismo, sería interesante investigar qué sucede con los niveles de corticosterona de un subordinado cuando experimentalmente se convierte en cría única y deja de estar estresado por la agresión de un dominante.

Finalmente, sería de gran interés estudiar el comportamiento de la corticosterona en crías del bobo café *Sula leucogaster*, una especie que independientemente de la disponibilidad de alimento reduce su nidada mediante el fratricidio obligado. Un estudio comparativo entre el bobo de patas azules (fratricida facultativo) y el bobo café (fratricida obligado) podría brindar información acerca de la influencia de esta hormona en la conducta de individuos en condiciones ecológicas distintas.

Conclusiones

Dado que los niveles circulantes de testosterona y estradiol fueron indetectables, no se puede establecer, como se había propuesto en la hipótesis inicial, que el aumento en la agresión que registran las crías dominantes bajo situaciones de escasez de alimento se deba a un incremento en los niveles circulantes de estos dos esteroides.

En apoyo a la hipótesis referente a los niveles de corticosterona, se demostró que las crías sometidas a condiciones de ayuno registran un aumento en los niveles circulantes de esta hormona, independientemente del estatus y del contexto social, regresando a niveles basales al reanudarse la alimentación.

Los resultados de este estudio representan a la fecha, el primer reporte de la respuesta hormonal a situaciones de ayuno en una especie de aves salvajes en condiciones de vida libre, y constituyen la primer evidencia, en crías de una especie de aves, de que los individuos subordinados tienen niveles basales de corticosterona más elevados que los dominantes.

BIBLIOGRAFIA

- Adams & Craig 1985 Effect of crowding & cage shape on productivity and profitability of caged layers. *Poultry Science* 64:238-242
- Albert D.J. *et al.* 1989 Medial accumbens lesions attenuate testo-dependent aggression in rats. *Physiol.Behav.* 46:625-631
- Allee W. 1939 Modification of the social order in flocks of hens by injection of testosterone propionate. *Physiological Zoology* 12:413-439
- Archawaranon M. & Wiley R. 1988 Control of aggression and dominance in white-throated sparrows by testosterone and its metabolites. *Horm. Behav.*22:497-517
- Balthazart J. 1983 Hormonal correlates of behaviour. pp.221-235 (En: *Avian Biology VII* Farner ed., Academic Press, New York)
- Bean N & Connor R. 1978 Central hormone replacement and home cage dominance in castrated rats. *Horm. Behav.*11:100-109
- Beuving G. & Vonder G.M.A. 1978 Effect of stressing factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens. *Gen. & Comp. Endocr.* 35:153-159
- Blem C. 1990 Avian energy storage. (Cap.2 en: *Current Ornithology VII* Power D. ed., Plenum Press, New York)
- Bouillon D. & Berdanier C. 1981 Effects of adrenalectomy of the diurnal variation in glycogen metabolism in starved-refed rats. *J. of Nutrit.* 111:1462-1474
- Bowman *et al.* 1978 Suppression of oestrogen-induced LH surges by social subordination in talapoin monkeys. *Nature* 275:56-57
- Bradley F. & Holmes 1971 The effects of hypohysectomy on adrenocortical function in the duck *Anas platyrhynchos*. *J.of Endocrino.* 49:437-457
- Brain P. 1980 Adaptive aspects of humoral correlates of attack and defeat in laboratory mice: A study in ethobiology. *Rec.Progr.Br.Res.* 53:391-413
- Brain P. & Evans A. 1977 Acute influences of some ACTH-related peptides on fighting and adrenocortical activity in male laboratory mice. *Pharm.Biochem.Behav.* 7:524-533
- Bronson F. 1978 Establishment of social rank among male mice: Relative effects of circulating FSH, LH and corticosterone. *Physiol.Behav.* 10:947-951
- Bronson F. & Eleftherion B. 1964 Chronic physiological effects of fighting in mice. *Gen.Comp.Endocr.* 4:9-14

- Bronson F. *et al.* 1973 Serum FSH & LH in male mice following aggressive and non aggressive interactions. *Physiol. & Behav.* 10:369-372
- Broom *et al.* 1986 Hen behaviour and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to handling and transport. *App.Anim.Beh.Sci.* 16:98
- Brown K.I. 1961 The validity of using plasma corticosterona as a measure of stress in the turkey. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*107:538-542
- Campbell D.T. & Stanley J.C. 1966 *Experimental and Quasi-experimental Designs for Research.* Rand McNally, Chicago.
- Collias N. 1950 Hormones and behaviour with special reference to birds & the mechanism of hormone action. (En: *Steroid hormones* Gordon S. ed., University of Winsconsin Press, Madison, Wisconsin)
- Collias N. & Traber R. 1951 A field study of some grouping and dominance relations in ringed-necked pheasants. *Condor* 53:265-275
- Constantin N. *et al.* 1977 Effect of adrenocorticotrophic hormone and starvation on adrenocortical function in chickens during early posthatch period. *Acta Vet.Brno.* 46:87-93
- Craig *et al.* 1986 Corticosteroids and other indicators of hen's well-being in four laying house environments. *Poultry Sci.* 65:856-863
- Cunningham & Van Tienhoven 1983 Relationship between production factors and dominance in White leghorn hens in a study on social rank and cage design. *App.Anim.Ethol.* 11:33-44
- Cunningham *et al.* 1987 Dominance rank and cage density effects on performance traits, feeding activity and plasma corticosterone levels in laying hens *Gallus domesticus.* *Appl.Anim.Behav.Sci.* 17:139-153
- Davis 1978 Shock elicited attack and biting as a function of chronic versus acute insulin injection. *Bull.Psychon.Soc.* 12:149-151
- Drummond H. 1987 A review of parent-offspring conflict and brood reduction in pelicaniforms. *Colonial waterbirds* 10(1):1-15
- Drummond H. 1993 Have avian parents lost control of offspring aggression? *Etología* 3:187-198
- Drummond H. & García-Chavelas C. 1989 Food shortage influences sibling aggression in the blue-footed booby. *Anim. Behav.* 37:806-819
- Drummond H. & Osorno J.L. 1992 Training siblings to be submissive losers: dominance between booby nestlings. *Anim. Behav.* 44:881-893

- Drummond H. *et al.* 1986 Parent-offspring cooperation in the blue-footed booby (*Sula nebouxi*): social roles in infanticidal brood reduction. *Behav Ecol & Sociobiol* 19:365-72
- Drummond *et al.* 1991 Sexual size dimorphism and sibling competition: implications for avian sex ratios. *Am Nat.* 138:623-41
- Edens F. *et al.* 1983 Grouping in Japanese quail I. Agonistic behaviour during feeding. *Poult.Sci.* 62:1647-1651
- Edwards T.C. & Collopy M.W. 1983 Obligate and facultative brood reduction in eagles: An examination of factors that influence fratricide. *The Auk* 100:630-635
- Flickinger G. 1961 Effect of grouping on adrenals and gonads of chickens. *Gen.Comp.Endocr.* 1:332-340
- Flickinger G. 1966 Response of the testes to social interaction among grouped chickens. *Gen.Comp.Endocrinol.* 6:89-98
- Forbes S. 1991 Burgers or brothers: Food shortage and the threshold for brood reduction. *Proc.Int.Ornithol.Congr.XX* p.1720-1726
- Freeman B. 1976 Stress and the domestic fowl: a physiological re-appraisal. *World's Poultry Science Journal* 27:263-275
- Freeman B. & Flack I.H. 1980 Effects of handling on plasma corticosterone concentrations in the immature domestic fowl. *Comp.Biochem.Physiol.* 66A:77-81
- Freeman B. & Manning A.C.C. 1979 Stressor effects of handling on immature fowl. *Res.Vet.Sci.* 26:223-236
- Freeman B. *et al.* 1980 Short-term stressor effects of food withdrawal on the immature fowl. *Comp.Biochem.Physiol.* 67A:569-571
- Fretwell S. 1969 Dominance behaviour and winter habitat distribution in Juncos *Junco hyemalis*. *Bird Banding* 40:1-25
- Gibbs M. & Ng K. 1984 Hormonal influence on the duration of short-term and immediate stages of memory. *Behav.Brain Research* 11:109-116
- Gledhill B. & Follet B. 1976 Diurnal variation and episodic release of plasma gonadotrophins in Japanese quail during a photoperiodically induced gonadal cycle. *J. of Endocr.* 71:245-257
- Gorbman *et al.* 1983 *Comparative Endocrinology*. John Wiley & Sons, NY.
- Gross W & Siegel P. 1988 Environment-genetic influences on immunocompetence. *J. of Animal Science* 66:2091-2094
- Gross *et al.* 1980 Some effects of feeding corticosterone to chickens. *Poultry Science* 59:516-522

- Guerra M. 1994 Diferencias en el cuidado paterno y la inversión hacia cada cría en el bobo de patas azules *Sula nebouxii* en la Isla Isabel, Nayarit, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Harding C. 1981 Social modulation of circulating hormone levels in the male guinea pig. *Amer.Zool.* 21:223-231
- Harding C. 1983 Hormonal influences on avian aggressive behaviour. p.435-467 (En: *Hormones and aggression* Svare B. ed., Plenum Press, New York)
- Harvey S. & Klandorf H. 1983 Reduced adrenocortical function and increased thyroid function in fasted and refed chickens. *J.Endocr.* 98:129-135
- Harvey S. et al. 1980 Influence of stress on the secretion of corticosterone in the duck (*Anas platyrhynchos*). *J.Endocr.* 87:161-171
- Harvey S. et al. 1983 Visual and metabolic stimuli cause adrenocortical suppression in fasted chickens during refeeding. *Neuroendocrinology* 37:59-63
- Heller R. 1978 Role of corticosterone in the control of post-shock fighting behaviour in male laboratory mice. *Behav. Processes* 3:211-222
- Heller R. 1979 An attempt to separate the roles of corticosterone and ACTH in the control of post-shock fighting behaviour in male laboratory mice. *Behav.Process* 4:231-238
- Henry J. & Stephens P. 1977 *Stress, health and the social environment*. Springer Verlag, New York.
- Hill J. 1983 Indicators of stress in poultry. *World's Poultry Sci. Journal* 39:24-32
- Holmes W. & Phillips J. 1976 The adrenal cortex of birds. pp.293-413 (En: *General, comparative and clinical endocrinology of adrenal cortex.*, Jones Y. & Henderson eds., Academic Press, New York)
- Huntingford F. & Turner A.. 1987 *Animal Conflict*. Chapman & Hall, London
- Hutchison J.B. 1974 Target cells for gonadal steroids in the brain: studies on steroid sensitive mechanisms of behaviour. p.123-137 (En: *Neural & Endocrine Aspects of Behaviour in Birds.*, P. Wright et al. eds., Elsevier, Amsterdam)
- Jones R. 1987 The assesment of fear in the domestic fowl. pp.40-81 (En: *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl*. Zayan & Duncan eds., Elsevier)
- Juráni et al. 1978 Effect of restraint upon hypothalamic and adrenal catecholamines in Japanese quail. *Br.Poult.Sci.* 19:321-325
- Kaverne E. 1979 Sexual and aggressive behaviour in social groups of talapoin monkeys. *CIBA Found.Symp.* 62:271-281

- Lack D. 1947 The significance of clutch size. *Ibis* 89:302-352
- Lack D. 1954 *The natural regulation of animal numbers*. Oxford University Press, Oxford.
- Lack D. 1966 *Population Studies of Birds*. Oxford University Press, London.
- Leshner A. 1975 A model of hormones and agonistic behaviour. *Physio. & Behav.* 15:225-235
- Leshner A. 1980 The interaction of experience and neuroendocrine factors in determining behavioural adaptation to aggression. *Progress in Brain Research* 53:427-438
- Leshner A. 1981 The role of hormones in the control of submissiveness. (En: *A multidisciplinary approach to aggression research.*, Brain P. & Benton D. eds., Elsevier, Amsterdam)
- Leshner A. 1983 The hormonal responses to competition and their behavioural significance. p.393-404 (En: *Hormones and aggressive behaviour*, Svare B. ed., Plenum Press, New York, London)
- Leshner *et al.* 1979 Effects of corticosterone on submissiveness in mice: some temporal and theoretical considerations. *Physio. & Behav.* 24:283-288
- Levine S. & Coover G. 1976 Environmental control of suppression of the pituitary-adrenal system. *Physiol. & Behav.* 17:35-37
- Levine S. *et al.* 1976 Expectancy and the pituitary-adrenal system. pp.281-296 (En: *Physiology, Emotion and Psychosomatic Illness*, Ciba Fdn Symp. 8 Elsevier, Amsterdam)
- Levine S. *et al.* 1989 The psychoneuroendocrinology of stress: A psychobiological perspective (En: *Psychoendocrinology*, Brush & Levin eds., Academic Press, New York.
- Lindman H.R. 1991 *Analysis of variance in experimental design*. Springer Verlag, USA
- Louch C. & Higginbotham M. 1967 The relation between social rank and plasma corticosterone in mice. *Gen.Comp.Endocrinol.* 8:441-444
- Manogue K. *et al.* 1975 Dominance status and adrenocortical reactivity to stress in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Primates* 16:457-463
- Marsteller *et al.* 1980 Agonistic behaviour, the development of the social hierarchy and stress in genetically diverse flocks of chickens. *Behav.Processes* 5:339-354
- Martin B. 1980 Steroid-protein interactions in nonmammalian vertebrates: distribution, origin, regulation and physiological significance of plasma steroid binding proteins. p.63-73 (En: *Steroids and their mechanism of action in nonmammalian vertebrates.*, G. Del Rio & Brachet, eds., Raven, New York)

- Mench J.A. 1988 The development of agonistic behaviour in male broiler chicks: A comparison with laying-type males and the effects of feed restriction. *Appl.Anim.Behav.Sci.* 21:233-242
- Mench J.A. 1991 Stress in Birds. *Proc.Int.Omithol.Congr.XX* p.1905-1914
- Mench J.A. & Ottinger M. 1991 Behaviour and hormone correlates of social dominance in stable and disrupted groups of male domestic fowl. *Horm.Behav.*
- Mock D. 1984a Infanticide, siblicide and avian nesting mortality. pp.3-30 (En: *Infanticide:comparative & evolutionary perspectives*, Hausfater & Hrdy eds., Aldine, NY)
- Mock D. 1984b Siblicidal aggression and resource monopolization in birds. *Science* 225:731-733
- Mock D. *et al.* 1987 Proximate and ultimate roles of food amount in regulating egret sibling aggression. *Ecology* 68:1760-1772
- Mock D. *et al.* 1991 Avian Siblicide. *American Scientist* 78:438-449
- Monaghan E. & Glickman S. 1992 Hormones and aggressive behaviour. pp.261-285 (En: *Behavioural endocrinology*, Becker J. *et al.* eds., MIT Press, Cambridge)
- Moss R. *et al.* 1979 Aggressiveness & Dominance in captive red grouse. *Agg.Behav.* 5:59-84
- Moyer K. E. 1976 *The psychobiology of aggression* Harper & Row Pub., London
- Murton 1971 The significance of gregarious feeding behaviour & adrenal stress in a population of wood pigeons (*Columba palumbus*). *J. of Zool.London* 165:53-84
- Myhre G. *et al.* 1981 Corticosterone and body temperature during acquisition of social hierarchy in the captive willow ptarmigan *Lagopus l. lagopus*. *Z.Tierpsychol.* 57:123-130
- Nelson 1978 *The sulidae:Gannets and boobies*. Oxford Univ.P., London
- Newton 1977 Breeding strategies in birds of prey. *Living bird* 16:51-82
- Nir J. *et al.* 1975 Effects of stress on the corticosterone content of the blood plasma and adrenal gland of intact and bursectomized (*Gallus domesticus*). *Poultry Sci.* 54:2101-2110
- O'Connell *et al.* 1981 Social interactions and androgens levels in birds. 1. Female characteristics associated with increased plasma androgen levels in the male ring dove (*Streptopelia risoria*). *Gen.Comp.Endocrinol.* 44:454-463
- Ottinger M. & Binkley H. 1979 Testosterone and sex-related physical characteristics during maturation of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Biol.Reprod.* 20:905-909
- Ottinger M. & Mench J. 1989 Reproductive behaviour in poultry: Implications for artificial insemination technology. *Brit.Poult.Sci.* 30:431-442

- Procter D. 1975 The problem of chick loss in the South Polar Skua *Catharacta maccormicki*. *Ibis* 117:452-459
- Ramenofsky M. 1984 Agonistic behaviour and endogenous plasma hormones in male Japanese quail. *Anim.Behav.*32:698-708
- Ramenofsky M. 1985 Acute changes in plasma steroids and agonistic behaviour in male Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.*60:116-128
- Ramenofsky M. & Gorbman A. 1980 Plasma hormones and aggressive behaviour in adult male Japanese quail. *Am.Zool.*20:791
- Ramos-Fernández G. 1993 Endocrinología de la dominancia social en las crías del bobo de patas azules *Sula nebouxii*. Tesis de licenciatura en Investigación Biomédica Básica, UNAM.
- Raszky J. & Herzig Y. 1975 Changes in body mass, organ mass, hematological indicators and biochemical indicators in chickens fasted at 20 to 30 days of age. *Acta vet. Brno* 44:9-15
- Rees A. *et al.* 1985 Adrenocortical responses to novel stressors in acutely or repeatedly starved chickens. *General & Comparative Endocrinology* 59:105-109
- Ricklefs R.E. 1965 Brood reduction in the curve-billed thrasher. *Condor* 67:505-510
- Rohwer W. & Rohwer F. 1978 Status signalling in Harris' sparrows: experimental deceptions achieved. *Anim. Behav.* 26:1012-1022
- Rohwer W. & Wingfield J.C. 1981 A field study of social dominance, plasma levels of luteinizing hormone and steroid hormones in wintering Harris' sparrows. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 57:173-183
- Sachser N. & Prove E. 1984 Short-term effects of residence in the testosterone responses to fighting in male guinea pigs. *Agg. Behav.* 10:285-292
- Sapolsky R. 1982 The endocrine stress-response and social status in the wild baboon. *Horm.Behav.* 16:279-292
- Sapolsky R. 1992 Neuroendocrinology of the stress response. pp.287-325 (En: *Behavioural endocrinology*, Becker J. *et al.* eds., MIT Press, Cambridge)
- Scott T.R. *et al.* 1983 Circulating corticosterone responses of feed and water deprived Broilers and Japanese Quail. *Poultry Science* 62:290-297
- Schlinger B. & Callard G. 1990 Aggressive behaviour in birds: an experimental models for studies of barin-steroid interactions. *Comp.Biochem.Physiol.* 97A: 3:307-316
- Searcy W. & Wingfield J.C. 1980 The effects of androgen and anti-androgen on dominance and aggressiveness in male redwinged black-birds. *Horm. Behav.*14:126-135

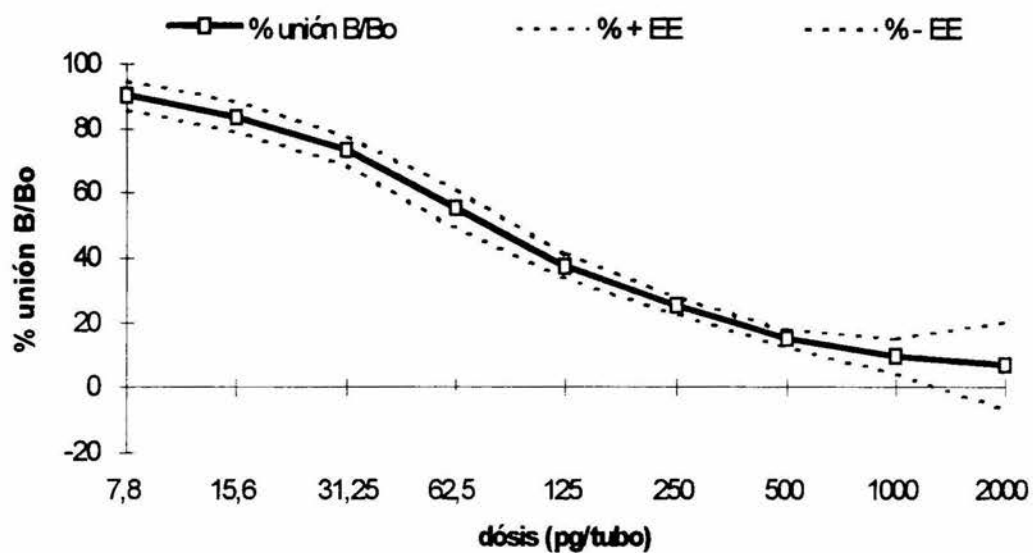
- Selye H. 1976 *The stress of life*. McGraw Hill, New York.
- Shuurman T. 1980 Hormonal correlates of agonistic behaviour in adult male rats. Vol.53, pp.415-420 (En: *Progress in brain research.*, McConnell *et al.* eds., Elsevier, Amsterdam.
- Siegel H.S. 1980 Physiological stress in Birds. *BioScience* 30(8):529-34
- Siegel H.S. 1985 Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal* 41:36-44
- Siegel H. & Siegel P. 1961 The relationship of social competition with endocrine weights and activity in male chickens. *Anim.Behav.* 9:151-158
- Silverin B. 1980 Effects of long-acting testosterone treatment on free-living pied flycatchers *Ficedula hypoleuca* during the breeding period. *Anim. Behav.* 28:906-912
- Silverin B. 1986 Corticosterone-binding proteins and behavioural effects of high plasma levels of corticosterone during the breeding period in the pied Flycatcher. *Gen.Comp.Endocr.* 64:67-74
- Southwick C. & Bland V. 1959 Effect of population density on adrenal glands and reproductive organs of CFW mice. *American Journal of physiology* 197:111-114
- Stinson C.H. 1979 On the selective advantage of fratricide in raptors. *Evolution* 33(4):1219-1225
- Telegdy G. 1982 Hormone-induced alteration in brain transmitter metabolism and brain function. *Endocrinologia Experimentalis* 16:217-227
- Vergnes M. *et al.* 1988 Hypothalamic 5-7 DHT injections increase aggressive behaviour in rats. *Int.J.Neurosci.* 41:297-357
- Warham J. 1974 The Fiordland Crested Penguin *Eudyptes pachyrhynchus*. *Ibis* 116:1-27
- Watson A. 1970 Territorial and reproductive behaviour of red grouse. *J.of Reprod. & Fertility* Suplll:3-14
- Watson A. & Parr R. 1981 Hormones implants affecting territory size and aggressive and sexual behaviour in red grouse. *Ornis Scand.* 12:55-61
- Wiley H. & Hartnet S.A. 1979 Effects of hunger on aggression, approach and avoidance by Juncos (*Junco nyemalis*). *Z.Tierpsychol.* 5:77-84
- Wilson S. & Sharp P. 1975 Episodic release of luteinizing hormone in domestic fowl. *J. of Endocrinol.* 67:77-86
- Williams 1984 Stress & the behaviour of domestic fowl. *World's Poultry Sci. Journal* 40:215-220

- Williams *et al.* 1977 Social strife in cockerel flocks during the formation of peck rights. *App.Anim.Ethol.* 3:35-45
- Williams *et al.* 1985 Induction of a pause in laying by corticosterone infusion or dietary alterations: effects on the reproductive system, food consumption and body weight. *British Poultry Science* 26:25-34
- Wingfield J.C. 1985 Short-term changes in plasma levels of hormone during establishment and defense of breeding territories in male song sparrows *Melospiza melodia*. *Horm.Behav.* 19:174-187
- Wingfield J.C. & Farmer D.S. 1975 The determination of five steroids in avian plasma by radioimmunoassay and competitive protein binding. *Steroids* 26:311-327
- Wingfield J.C. & Farmer D.S. 1980 Control of seasonal reproduction in temperate-zone birds. (En: *Progress in reproductive biology* vol.5, Hubinot P. ed., Basel, Karger)
- Wingfield J.C. & Ramenofsky M. 1985 Testosterone and aggressive behaviour during the reproductive cycle in male birds. pp. 92-104 (En: *Neurobiology* Giles R. & Balthazart J. eds., Springer-Verlag, Berlin)
- Wingfield J.C. *et al.* 1982 Endocrine responses of white-crowned sparrows to environmental stress. *Condor* 84:399-409
- Wingfield J.C. *et al.* 1987 Testosterone and aggression in birds. *Amer.Sci.*75:602-608
- Wingfield J.C. *et al.* 1990 The "Challenge Hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am. Naturalist* 136(6):829-846
- Zar J.H. 1984 *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, USA; 2da ed.

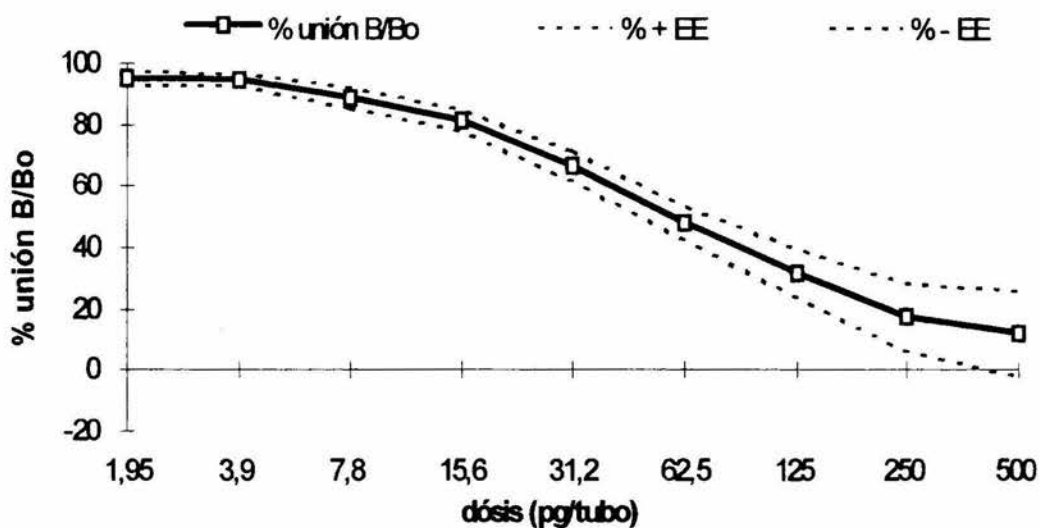
Imagen de la portada: Befreiung, 1955
 M.C. Escher
 Litografía, 43.5 X 20 cm

APENDICE

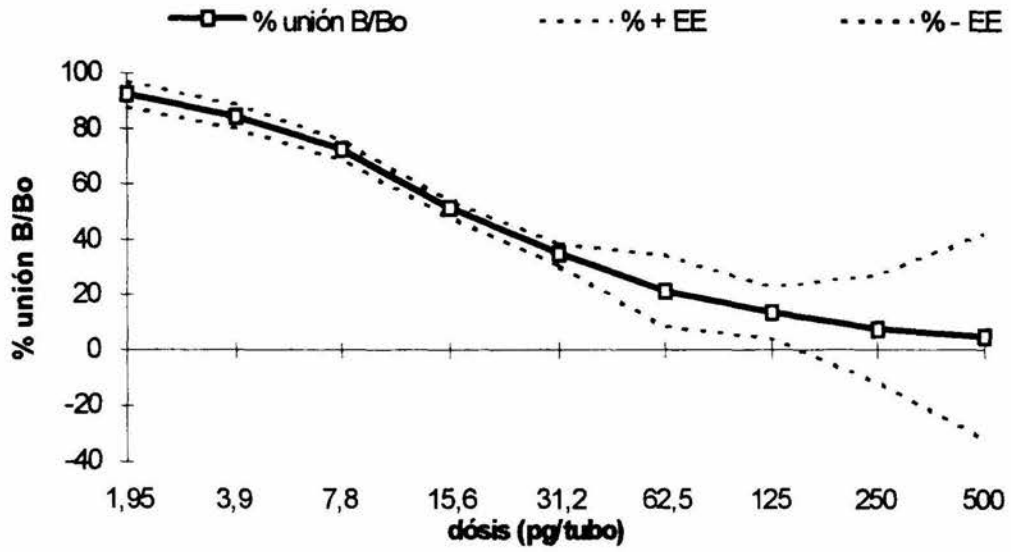
Curva patrón promedio de corticosterona



Curva patrón promedio de estradiol



Curva patrón promedio de testosterona



AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Hugh Drummond la confianza depositada en mí para la realización de este proyecto, las incontables enseñanzas y el compartir, siempre de buen humor, la experiencia de trabajar en el campo. A Marcela Osorio, Miguel Rodríguez Gironés, Teresa Saavedra y Cristina Canales, todas las horas bajo el sol registrando conducta. A Gabriel Ramos, el mostrarme el arte de picotear bobitos. A los Pescadores de San Blás y la Armada de México, la buena disposición para ayudar. Al Dr. John Wingfield y su grupo, el aceptar colaborar con este proyecto, en especial a Lynn Erckmann, Steve Schoech y al Dr. Masaru Wada, la paciencia y la extraordinaria asesoría durante mis pininos en el análisis de esteroides. A Steve y Sally Schoech, su hospitalidad. A Jerry Jacobs, al Dr. Constantino Macías y a Tzipe Govezensky, el ayudarme a salir a flote en el agitado mar de la cibernética y la estadística. Al Dr. Carlos Valverde, la Dra. Carmen Aceves, Brenda Anguiano y Gabriel Gutierrez, su tiempo y sus valiosos comentarios. Al Dr. Horacio Merchant y Roxana Torres su colaboración en el análisis histológico de las gónadas. Al Dr. Díaz de León, Susan Bartroff, Virgilio Lara, Jorge de la Mora, Lucy Tapia y al personal de la UACPyP, su preocupación por mi devenir en términos administrativos. A Alfonso Martínez, Violeta Aguilar, Jorge Morales, Diego Holmgren y Cristina Rodríguez, su apoyo en los detalles prácticos de la realización de esta tesis. A Miguel Rubio y Alicia de la Mora, sus correcciones de estilo. A los Dres. Carlos Arámburo, Federico Bermúdez, Horacio Merchant y Ana Luisa Piña, sus alentadores comentarios y sugerencias al manuscrito. A la SEDUE, el permiso para trabajar en Isla Isabel. A la National Geographic Society (# 4535-91) y DGAPA-UNAM, el financiamiento de esta investigación (proyecto IN 211491), así como la beca que recibí para la elaboración de esta tesis.

A Mary Zaragoza y Carmen Gómez, su pasión y su sapiencia. A José Camacho, la buena idea. A Amanda e Isabel, tantos años de cariño y dedicación. A la gran familia Burrón, el empujar hacia adelante. A los Microchips, siempre presentes en las catástasis.