

75



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTOS DE LA CORTICOSTERONA EN LAS RELACIONES
AGONISTICAS DE CRIAS DE BOBO DE PATAS AZULES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ADRIANA VALLARINO MONCADA

ASESOR: DR. HUGH DRUMMOND DUREY



MEXICO

DICIEMBRE 2002



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.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Adriana Vallizón

Monzote

FECHA: 27/Nov/02

FIRMA: J. Vallizón

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Para Adriana Moncada Larrañaga por más de 25 años de paciencia. Porque siempre sonríes.

A Roberto Vallarino Almada. Esto era lo que me robaba de tu lado con tanta fuerza.

A Roberto y Adriana por las tardes de pelota amarilla en el cálido Belgrado.

Y la palabra *muerte* fosforece en la noche
como un augurio que ha traído la lluvia;
el sabor mineral de los insomnios oprime el paladar
contra la lengua y hace un vacío en la boca.

Se pierden los amarres del presente
en el frío litoral de la memoria.

Únicamente queda una playa de vidrios
que hienden las ideas de un pasado lejano
del que sólo recuerdo los ojos amarillos
y la piel de ceniza.

No hay orillas.

El hombre busca siempre llegar al otro lado
y al final se da cuenta que nunca se ha movido.

Roberto Vallarino. Septiembre – Diciembre, 1978

Gracias...

A Hugh Drummond por enseñarme todo lo que sé acerca de la ciencia. Por confiar en mí y especialmente por salvarme del "cautiverio". Por el buen humor en el campo y durante el largo proceso de poner en papel los pensamientos.

A Francisco Galindo por su confianza y enseñanza desde hace cinco años.

A Daniela Vallarino por su risa y sus preguntas.

A Luly Moncada por su desprendimiento y presencia en momentos difíciles.

A Martha Larrañaga por sus palabras y consejos.

A toda mi familia, simplemente por ser mi familia.

A Tere "Paola" Morán por su amistad de siempre, sus domingos cinéfilos y por "deshollinar" juntas. Por la historia de hadas.

A Susana Patiño por su espíritu aventurero y por creer que el mundo todavía tiene remedio.

A Jorge Tovar por creer siempre en mí. Por ser un crítico irremediable.

A Gabriela Contreras por ser el lazo hacia mi infancia.

A Lucas Fernández por sus achuchones y ánimos a 8000 kilómetros de distancia.

A mis amigos del laboratorio de conducta animal por ser realmente como una familia. Por sus despedidas, risas, apoyo, enojos, críticas y especialmente por estar siempre ahí.

A Larisa Lee por enseñarme a correr.

A Jimena Nieto y a Miguel Serrano por enseñarme a sangrar bobos. Jimena: no sabes el gusto que me da haberte encontrado y que seas mi amiga.

A Claudia Valderrábano por su ayuda isleña y no isleña en todos los sentidos.

A Cristina Rodríguez por la logística del material en el campo, sus comentarios y consejos.

A mis ayudantes de campo, especialmente a Jorge Álvarez y a Cristina Avelar. Por las arduas horas de observación bajo el sol, ayuda, comentarios e interés. Jorge: gracias por las fotos.

A Alberto Velando por su buen humor en mis crisis de campo y por su guía al implantar.

A los pescadores de la Isla Isabel por su ayuda constante, los buenos momentos y por sacarnos de la isla huyendo de la ley.

A John C. Wingfield por el apoyo brindado a este proyecto. Por su tiempo y sus enseñanzas.

A Sasha Kitaysky por todo su tiempo, sus charlas y optimismo. Por hacerme pensar y ver lo que estaba frente a mí.

A Samrrah Raouf, Meta Landys y Lorenzo Ciannelli su hospitalidad, amistad y guía.

A Lynn Erckmann por toda su ayuda en el análisis hormonal.

A Ignacio Moore, Brian Walter, Morgan Benowitz – Fredericks, Lisa Hayward, John Payne y a todos los integrantes del laboratorio de endocrinología conductual de la Universidad de Washington por sus comentarios, sugerencias y hacer mi vida más fácil.

A Laurel Reitmann, Tara Fisher, Michelle Fisher, Jeremy Smith y Brooke Scelza por la diversión, la buena comida y el "lutte fisk".

A César González Zuarth y Alejandro González Voyer, por todas las ideas, tiempo y paciencia.

A José Luis Osorno, Roxana Torres y Constantino Macías por sus comentarios y recomendaciones.

Al Dr. Héctor Arita, director del Instituto de Ecología, UNAM y a Alicia por su ayuda en trámites administrativos.

A mi comité de tesis por su tiempo y comentarios.

A José Luis Zurita por salvar mi tesis de los virus cibernéticos.

Al Proyecto CONACYT 31973-H a Hugh Drummond Durey por el financiamiento del trabajo de campo.

A Fundación UNAM por la beca PROBETEL desde agosto del 2001 hasta agosto del 2002.

A la Dirección General de Intercambio Académico de la UNAM por la beca de Movilidad Internacional de Estudiantes para la estancia realizada en la Universidad de Washington, Seattle desde Mayo hasta Agosto del 2002.

A la SEMARNAT por los permisos de colecta y exportación de sangre.

A la Armada de México por el apoyo logístico.

CONTENIDO

Página

I RESUMEN	1
II INTRODUCCIÓN	2
1. Dominancia	2
a) Concepto de dominancia	2
b) Sumisión	4
2. Dominancia en las crías de bobo de patas azules	5
a) Tamaño de la puesta y nidada, alimentación y crecimiento	5
b) Relación de dominancia – subordinación	6
3. Endocrinología conductual	10
a) Concepto de endocrinología conductual	10
b) Hipótesis de retroalimentación	12
c) Hormonas esteroides y hormonas hipófisis – adrenocorticales	12
d) Corticosterona y agresión	19
4. Endocrinología conductual en el bobo de patas azules	21
5. Objetivos	25
6. Hipótesis	25
7. Predicciones	25
III MATERIAL Y MÉTODOS	26
1. Zona de estudio y sujetos experimentales	26
2. Diseño experimental	26

3. Registro de conducta	27
4. Criterios de registro	27
5. Obtención de muestras de sangre	28
6. Implante de la cápsula silástica	29
7. Medidas	30
8. Análisis de la corticosterona	30
a) Preparación de las muestras	30
b) Extracción	30
c) Preparación para el RIA y recuperación	30
d) Radioinmunoanálisis (RIA)	31
e) Conteo	31
f) Cálculo de la concentración de corticosterona y validación del ensayo	32
9. Análisis de proteínas de unión de la corticosterona (CBG)	33
a) Separación de la corticosterona	33
b) El ensayo	33
c) Obtención de las CBG	33
d) Conteo de las CBG	34
10. Análisis estadístico	34
IV RESULTADOS	36
1. Conducta	36
a) Sumisión	36
b) Tiempo de actividad	40
c) Solicitud	44
d) Alimentación	46

e) Agresión	51
2. Fisiología	53
a) Corticosterona	53
b) Proteínas de unión de la corticosterona	53
3. Crecimiento	54
a) Peso	54
b) Pico	54
4. Resumen de resultados	55
V DISCUSIÓN	58
1. Fisiología	58
2. Conducta	60
a) Respuesta temprana	61
i Tasa por hora de observación	61
Subordinados	61
Dominantes	63
Adultos	64
ii Tasa por hora activos al mismo tiempo y por hora de actividad ...	65
b) Respuesta tardía	65
VI CONCLUSIONES	67
1. El papel de la corticosterona en las relaciones agonísticas de pollos de bobo de patas azules	67
2. Planes futuros	69
VII LITERATURA CITADA	70

RESUMEN

ADRIANA VALLARINO MONCADA. Efectos de la corticosterona en las relaciones agonísticas del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*). (Bajo la dirección del Dr. Hugh Drummond Durey).

Las crías de bobo de patas azules (bpa) en nidadas de dos establecen una relación de dominancia – subordinación. Las crías eclosionan con una diferencia promedio de cuatro días y ésta determina la relación. Los niveles de corticosterona en crías subordinadas de bpa son el doble que en dominantes y crías únicas (Núñez de la Mora et al., 1993). Para determinar si la corticosterona afecta la conducta subordinada de la segunda cría, incrementamos artificialmente los niveles de corticosterona implantando una cápsula silástica con corticosterona a crías subordinadas de 12 días para el grupo experimental y una cápsula silástica vacía para el grupo control. Comparamos los cambios conductuales después del tratamiento en crías experimentales versus crías controles. La mayoría de las diferencias conductuales entre experimentales y controles se presentaron durante los dos primeros días del tratamiento. Las subordinadas experimentales presentaron un aumento de sumisiones espontáneas y los dominantes experimentales presentaron un aumento en la proporción de tiempo activos y en la tasa de alimentación. Además, las nidadas experimentales aumentaron la tasa de alimentación y la proporción de tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo. La corticosterona provocó mayor tendencia de expresar sumisiones espontáneas en las subordinadas en este experimento. En adición, el aumento en esta conducta, ó el cambio en otra conducta, modificó la conducta de otros miembros de la familia.

I INTRODUCCIÓN

1. Dominancia

a) Concepto de dominancia

El concepto de dominancia es controversial. Después de los años 20 fue ampliamente utilizado cuando los investigadores descubrieron que grupos de aves adultas, mamíferos y otros animales se organizaban entre ellos según una jerarquía agonística. Contando los picotazos que cada pájaro daba a los otros en el grupo, Schjelderup - Ebbe fue capaz de construir una secuencia lineal desde el que picaba más, el dominante, hasta el que sólo recibía picotazos, el subordinado (1). Este estudio proveyó el origen del concepto contemporáneo de "dominancia" que en investigaciones posteriores incluía no únicamente interacciones agresivas, sino lo más importante, la prioridad de acceso a recursos que dicha dominancia debía conferir (1). Tener acceso a recursos sin tener que pelear en cada ocasión es claramente ventajoso para el individuo dominante en ese momento. Para el subordinado es más ventajoso distinguir el comportamiento del dominante y someterse, pues resulta menos costoso que enfrentarse en una pelea perdida (1).

En el estudio de la conducta animal se utiliza el término "conducta agonística", el cual incluye todas las conductas de conflicto entre individuos, desde el ataque hasta la sumisión y la huida (2). Ver la dominancia de una forma lineal, es decir, que un individuo domina a otro y este otro domina a otro y así sucesivamente, es simplista, ya que la dirección de dominancia entre dos individuos varía con la situación (1). También se ha cuestionado en las relaciones bilaterales, si la sumisión de uno de los individuos, más que la agresión de otro, no es la que determina la esencia de la relación. Es importante resaltar que el término de dominancia es una descripción de regularidades de peleas ganadas o perdidas (1).

Gran parte de la investigación acerca de la agresión en los treinta y cuarenta en la tradición psicológica comparativa fue dirigida a conocer y establecer factores fisiológicos y sociales

responsables de la dominancia en roedores de laboratorio. La dominancia se veía como una condición que se establecía mediante el aprendizaje, y los efectos de experiencias previas en la propensión a atacar fueron enfatizados. Por ejemplo, un animal iniciaba el ataque más fácilmente y tendía a ganar con mayor frecuencia cuando peleaba en un lugar familiar, aunque en ese entonces no relacionaron el efecto de residencia con la territorialidad (1). El tamaño y la edad frecuentemente se correlacionan con la dominancia en el reino animal y tanto en aves como en mamíferos también está influida por el sexo, tamaño del cuerpo, tiempo en un grupo y niveles hormonales.

La dominancia se presenta por acceso al alimento, parejas sexuales, lugares en donde vivir, etc. en un momento y tiempo determinados (2). En crías hermanas la primera razón funcional para ser subordinado, es evitar los potenciales encuentros dañinos o fatales a una edad en la que hay pocas posibilidades de ganar si se es la cría menor. La dominancia entre pollos aparentemente afecta su acceso al alimento, su crecimiento y su mortalidad (3,4).

Bernstein (1981) mencionó cuatro tipos de dominancia: verdadera dominancia - subordinación, dominancia territorial, perdedores y ganadores entrenados y asimetría de atributos. Una relación de dominancia verdadera se forma cuando una historia de interacciones entre dos individuos resulta en uno de ellos actuando como sumiso cada vez que se enfrenta con el otro y depende de un reconocimiento individual. La dominancia territorial ocurre cuando la predictibilidad entre dos individuos no depende de sus identidades individuales sino de la localización espacial del encuentro. La situación de ganadores y perdedores entrenados también depende de un aprendizaje, pero no involucra una identidad individual o localización: cuando una historia de victorias o derrotas convierte al animal en agresivo o sumiso hacia otros coespecíficos, entonces es un ganador o un perdedor entrenado respectivamente. La dominancia por asimetría de atributos se presenta cuando invariablemente el individuo de mayor tamaño o con más fuerza es el ganador. En estas cuatro categorías se menciona el término dominancia porque uno de los dos contrincantes se rinde, esto

es, emite una respuesta que reduce la probabilidad de agresión del otro individuo, como volar, caminar para atrás o emitir una señal de sumisión. Cualquiera que sea la acción de rendición debe ocurrir al inicio del enfrentamiento, ya que de no ser así, lo que ocurriría es una victoria predecible, no una relación de dominancia (5).

En especies de pájaros en donde la agresión entre hermanos resulta en fratricidio, la relación agonística entre estas crías varía de una violencia desenfrenada hasta una relación de dominancia subordinación ritualizada (6). Estos dos casos se pueden ejemplificar en dos especies de súlidos: en bobos cafés, cuando nace la cría menor con una ventaja promedio de 4.5 días, la mayor la ataca sin moderación hasta que la expulsa del nido o muere de inanición porque impide que sea alimentada por los adultos. En cambio, ambas crías de bobos de patas azules presentan un aprendizaje a una edad temprana. El menor aprende a ser subordinado cuando es atacado por el mayor y éste a su vez aprende a reconocer las señales de sumisión del hermano y deja de atacarlo (7).

b) Sumisión

La sumisión se puede definir como la tendencia de un individuo a rendirse o someterse ante una amenaza, ataque o intento de ataque por un oponente (8). La respuesta de sumisión más común en roedores es un conjunto de posturas ritualizadas que son señales que pueden terminar un ataque y proveer mecanismos potenciales para evitar ser atacado (2).

Al discutir los mecanismos que controlan la sumisión, es importante enfatizar que no ocurre sin un ataque previo. Virtualmente ningún animal se somete ante otro sin haber sido atacado en algún momento de su historia y ninguna intervención fisiológica puede inducir sumisión independientemente de la experiencia de un ataque. Cuando se trata de entender el papel de los factores que controlan la respuesta sumisa, un factor sumamente importante es el aprendizaje. Los animales no necesitan aprender cómo reaccionar sumisamente, esa habilidad puede estar pre -

programada en el organismo, pero lo que sí necesitan aprender es cuándo portarse de esta forma. Ellos aprenden el contexto o situaciones que demandan este tipo de conducta. A través de experiencias repetidas de derrota, los animales se someten cada vez más rápido después del ataque, despliegue agresivo inicial o intento de ataque (2). Un estado hormonal difícilmente puede provocar que un animal sea sumiso o no, sin embargo, existe alguna evidencia en ratones, aves, peces y reptiles de que los niveles hormonales adrenocorticales individuales pueden indicar con qué rapidez se someterán a un ataque (9).

2. Dominancia en las crías de bobo de patas azules

a) Tamaño de puesta y nidada, alimentación y crecimiento

El bobo de patas azules pone de uno a tres huevos en un nido en el piso en pequeñas islas del Océano Pacífico. Las nidadas de uno, dos o tres pollos nacen con un intervalo promedio de cuatro días entre ellos y ambos padres los alimentan durante cuatro meses o más mediante regurgitación de sardinias y anchoas dentro de sus bocas (10). Las hembras de bobo crecen más rápido que los machos y a la edad de 79 días, son 27% más pesadas que sus hermanos (10). El sexo del compañero de nido no afecta la sobrevivencia del pollo, ni tampoco el crecimiento, ya sean hembras o machos o menores o mayores (11).

García y Saavedra (1997) encontraron que las primeras crías en nidadas de dos sobrevivieron significativamente más que sus hermanos hasta los 70 días, pero no sobrevivieron más hasta los 30 días. En nidadas de tres no hubo diferencia en la sobrevivencia de primeros y segundos críos. Sin embargo, las proporciones de primeros y segundos críos que sobrevivieron fueron significativamente mayores que la de terceros, tanto a 30 como a 70 días. La mayor probabilidad de morir se encontró dentro de los primeros seis días de vida en nidadas de dos y tres críos (11).

b) Relación de Dominancia - Subordinación

En crías de bobo de patas azules, la dominancia por diferencia de tamaño y fuerza (ocasionada por la diferencia de edad promedio de 4 días) da lugar rápidamente a perdedores y ganadores entrenados. Durante los primeros 60 días, el promedio de picotazos del mayor al menor es de 2.9 al día, picoteando y mordiendo más frecuentemente a la edad de 10 a 20 días cuando su hermano tiene de 6 a 16 días de edad. A la edad de 10 días, el dominante ha adquirido suficiente coordinación motora para emitir picotazos y su compañero de nido está saliendo de debajo de las plumas del adulto lo suficientemente seguido como para ser un blanco accesible. En contraste, el promedio de picotazos del pollo menor es únicamente de 0.1 por día en los primeros 60 días, mayormente cuando tiene entre 5 y 10 días de edad. Este esfuerzo por tomar la ofensiva es substituido rápida y casi completamente por sumisión, ya que el pequeño adopta la postura de pico hacia abajo y la cara alejada (*bill down and face away BDFA*) rutinariamente y/o se mueve lejos de su hermano cuando es amenazado o atacado (12).

La agresión ocurre durante o independientemente de la alimentación, y mientras algunas veces inhibe la solicitud y el ser alimentado, también a veces se suspende durante la alimentación, permitiendo al menor alimentarse aún cuando el mayor está solicitando alimento a su lado. Esta y otras observaciones han llevado a dos equipos independientes a inferir que los pollos mayores comparten la comida aún teniendo la capacidad física de marginar a sus compañeros de nido más de lo que normalmente lo hacen (6,4).

Debido al dimorfismo sexual que existe en los bobos de patas azules, se esperaría que la agresión estuviera a favor de las hembras. Observaciones longitudinales de diadas de hermano - hermana no han mostrado ningún efecto del tamaño relativo sobre la competencia, aunque no se puede descartar algún efecto sobre la intensidad de la agresión o sobre la agresividad de la cría subordinada. Los machos dominan a sus hermanas menores, aún cuando en promedio se volvieron

21% más pesadas que ellos a los 79 días de edad. Esta estabilidad longitudinal en el agonismo de hermano – hermana parece contradecir las expectativas de que la diferencia de tamaño determina al ganador una vez que la relación ya está establecida, y parece deberse al aprendizaje, lo cual implica una relación de dominancia de ganadores / perdedores entrenados (14).

La escasez de alimento puede propiciar la agresión y ser la causa principal de picotazos intensos y fratricidio. Los pollos mayores que perdieron a sus hermanos durante las primeras cuatro semanas de vida pesaban entre 20 y 25% menos que su peso potencial el día antes de la pérdida del hermano comparados con otros pollos de la misma edad que no los perdieron (15). En pollos privados de alimento artificialmente, los picotazos emitidos por los mayores aumentaron notablemente, llegando a valores máximos en el día en el que el déficit de peso de los mismos estaba entre 20 y 25% (13). En pares experimentales de crías hermanas, la privación relativa de alimento puede determinar cuál se vuelve dominante agresivo (6).

Para probar si la experiencia influye en la tendencia para comportarse agresiva o sumisamente, se establecieron pares experimentales de pollos de 12 a 55 días de edad, en nidos artificiales o cambiando pollos entre nidos naturales. Cada uno había crecido como dominante o como subordinado en su nido natal de dos pollos. Como se había previsto, cada pollo se comportó como se hubiera comportado en su nido natal, sin importar si su compañero (desconocido) era un dominante o un subordinado. En los pares experimentales de dominantes con un compañero subordinado del mismo tamaño, el primero se portó agresivo y el segundo se portó sumiso. En pares de dominantes, hubo series de batallas escaladas, con momentos de cansancio y sumisión de los perdedores, seguido por ataques renovados de los mismos o de los ganadores. En pares de dos subordinados, la agresión estuvo ausente o fue mínima (13).

Sin embargo, en ausencia de experiencia social con un hermano, el tamaño relativo puede determinar la dirección de la dominancia y esto fue probado apareando pollos únicos de nidadas

naturales con otro pollo único. En este caso, una relación de dominancia – subordinación se creó abruptamente, y en casi todos los pares, el pollo más grande fue el que adoptó el papel de dominante. Aún cuando la diferencia en tamaño fue muy pequeña, ambos pollos la detectaron y respetaron rápidamente. Evidentemente, estos pollos respondieron a una asimetría en algún atributo, probablemente tamaño, masa o algún indicador de madurez (13).

Para conocer cómo se comportan los pollos cuando el aprendizaje y el tamaño del contrincante son opuestos, por ejemplo, cuando una cría aprendió a ser dominante y el tamaño de la otra cría es mayor, Drummond y Osorno (1992) formaron pares experimentales de un dominante con un subordinado 32% más pesado y 3.9 días mayor y se compararon con pares control en los que las diferencias de tamaño y edad eran las que se observan en una nidada natural. Los pollos tenían entre 15 y 31 días de edad. Los efectos del aprendizaje previo probaron ser más fuertes, pero también el tamaño relativo/edad/madurez ejercieron simultáneamente una influencia en la conducta de los subordinados. Durante los primeros tres días del experimento, 11 de 12 dominantes experimentales picotearon con mayor frecuencia que su compañero de mayor tamaño. Sin embargo, los subordinados experimentales fueron más agresivos que los subordinados del grupo control (quienes no picotearon nunca). De estos subordinados experimentales, ocho de ellos picotearon agresivamente a su compañero de menor tamaño. Parece que los pollos están condicionados a mantener un papel de sumisión en el nido natal, pero continuamente miden el tamaño relativo o fuerza de su compañero de nido para tratar de invertir la dominancia agresivamente si existe una asimetría favorable (13).

Para probar el efecto de la experiencia y el tamaño relativo en el establecimiento de relaciones de dominancia, se aparearon permanentemente pollos dominantes con pollos únicos que eran un poco más grandes y pollos subordinados con pollos únicos que eran un poco más pequeños. Durante las primeras cuatro horas, los dominantes fueron seis veces más agresivos que

los pollos únicos y los subordinados fueron siete veces menos agresivos que los pollos únicos. Los subordinados mantuvieron su papel de subordinado durante 10 días de convivencia con el otro pollo, mientras que en el día seis, únicamente la mitad de los dominantes seguía agrediendo más al pollo único, lo que en esta situación experimental indica que el ser entrenado como perdedor produce un efecto más persistente que ser entrenado como ganador. Sin embargo, con este diseño se tiende a reforzar el entrenamiento como subordinado y a invertir el entrenamiento como dominante, así que hay que tener precaución sobre concluir que el entrenamiento como subordinado produce efectos que son más resistentes (12).

Es interesante observar que las relaciones de dominancia en los pares de dominantes con un pollo único fueron inestables por lo menos durante cuatro semanas, ya que los pollos dominantes que asumieron el papel de subordinado, no emitían las señales con la misma claridad y frecuencia que un pollo menor subordinado en pares naturales, tal vez porque no estuvieron expuestos a una agresión intensa durante las primeras semanas de vida. Los pollos tenían entre 13 y 20 días de edad cuando fueron apareados para el experimento (12).

La agresión de los pollos únicos apareados con subordinados un poco más grandes, parece contradecir la conclusión anterior de que en pollos que no tienen hermanos, cuando son apareados artificialmente con otros, el tamaño relativo entre ellos es el que determina su postura agonística. Posiblemente poco tiempo después de aparearse un pollo único con un subordinado, los únicos detectaron la sumisión de su compañero subordinado y respondieron con agresión, lo cual implica que los pollos están poniendo atención continuamente no únicamente al tamaño relativo, sino también a algunos índices (conductuales) de las tendencias agonísticas de su compañero (12).

3. Endocrinología Conductual

a) Concepto de Endocrinología Conductual

La endocrinología conductual es el estudio de la interacción que existe entre las hormonas y la conducta. Se han encontrado tanto relaciones negativas como positivas entre los niveles de diferentes hormonas y la conducta (10,16) La interacción es bidireccional: las hormonas pueden afectar la conducta y ésta puede influir en las concentraciones hormonales. Algunas señales ambientales, que se transmiten a través de secreciones hormonales, resultan en la activación o inactivación de conductas apropiadas (ej. durante la estación reproductiva) (17). La endocrinología conductual es verdaderamente interdisciplinaria, ya que los métodos y técnicas de una disciplina científica se han tomado y refinado por investigadores de otros campos. Psicólogos, neurocientíficos, entomólogos, zoólogos, anatomistas, fisiólogos, endocrinólogos, psiquiatras y biólogos conductuales han hecho contribuciones para comprender las interacciones entre las hormonas y la conducta (17).

Aunque la endocrinología conductual se considera relativamente nueva con tan sólo 50 años de historia, iniciando su estudio formal con la publicación del libro *Hormones and Behavior* (Beach, 1948), tiene raíces muy antiguas, ya que algunos efectos de las hormonas en la conducta han sido reconocidos implícitamente desde hace siglos (17). Desde principios de los noventas se han hecho intentos para aplicar los datos encontrados en el laboratorio a situaciones ecológicas reales de interacciones hormona – conducta y proveer así, hipótesis probables. En recientes años se ha probado que la regulación en la secreción hormonal tiene múltiples funciones en la regulación de la historia de vida de los individuos (18,19).

La mayor parte del progreso reciente en la endocrinología conductual ha sido el resultado de los avances técnicos en las herramientas que nos permiten detectar, medir y probar las funciones de las hormonas. Las técnicas utilizadas en este campo son las siguientes: la extirpación de la fuente de una hormona y su reemplazo; bioensayos (pruebas de los efectos de la hormona en un ser vivo);

inmunoensayos (son más comunes que los bioensayos porque no se necesita utilizar el animal entero sino únicamente tejidos o productos del mismo) que incluyen varios tipos: radioinmunoensayos (RIA), enzimoimmunoensayos (EIA); inmunohistoquímica (ICC) para localizar la hormona en el cuerpo; autoradiografía para determinar la localización de una hormona; existen también técnicas farmacológicas y manipulaciones genéticas (17).

Hay que recalcar que las hormonas no producen cambios conductuales por ellas mismas, éstas cambian la probabilidad de que una conducta específica sea emitida en el contexto conductual o social adecuado. El punto principal de la endocrinología conductual es averiguar cómo los efectos fisiológicos generales de las hormonas pueden eventualmente alterar la conducta y cómo la conducta puede influir en los efectos hormonales. Los individuos poseen tres componentes para interactuar en términos de conducta: sistemas sensoriales, integradores (sistema nervioso central) y efectores; las hormonas influyen en estos tres sistemas para que estímulos específicos puedan ejercer ciertas respuestas en la situación apropiada. Las estructuras periféricas como órganos vitales o sistema nervioso periférico pueden ser afectadas también por hormonas y esos efectos por sí mismos influir en la conducta. Una conducta dependiente de una hormona en particular debe desaparecer cuando la fuente de la hormona se elimina o cuando la acción de la hormona es bloqueada y la conducta debe reaparecer cuando la hormona es reintroducida (17).

El área a la que más atención se le ha dedicado dentro de la endocrinología conductual ha sido a la agresión influida por hormonas gonadales. La única área sistemática en el estudio de la agresión que involucra a hormonas no reproductivas ha sido el sistema hipotálamo – hipófisis – adrenocortical (1).

b) Hipótesis de retroalimentación

Los estudios en los que se utilizan las técnicas tradicionales de extirpación glandular y reemplazo, proveen información acerca del estado basal hormonal en la conducta. El estado basal se refiere a la condición hormonal antes de entrar a una situación de prueba (20). Leshner sugirió otra forma cualitativamente diferente mediante la cual las hormonas pueden afectar una conducta, a la cual llamó "efecto de retroalimentación". Primero se presenta una experiencia crítica o exposición a un estímulo crítico que causa respuestas hormonales y una activación conductual. Las respuestas hormonales producen una retroalimentación y afectan respuestas conductuales futuras. Los efectos de retroalimentación se refieren a cambios conductuales en respuesta a cambios hormonales agudos cuando se presenta una experiencia o estímulo, mientras los efectos del estado basal hormonal, se refieren a efectos antes de la estimulación (21).

c) Hormonas esteroideas y hormonas hipófisis - adrenocorticales.

Las hormonas involucradas en las relaciones agonísticas son los andrógenos y las hormonas hipófisis adrenocorticales. Los andrógenos biológicamente más importantes son la testosterona y la androstenediona, los cuales se producen en las células de Leydig en los testículos y en los ovarios, en donde son transformados en su mayoría en estrógenos (17). La presencia de andrógenos en las primeras etapas de la vida, de alguna forma sensibiliza el cerebro para que el animal responda agresivamente a un coespecífico si la testosterona también está presente en la vida adulta (22). No se sabe con qué velocidad los niveles de los esteroideas sexuales pueden cambiar en respuesta a cambios en las situaciones conductuales y es aún más incierto cómo estos cambios afectan la conducta en situaciones similares consecuentes (21).

Las hormonas esteroideas tienen una estructura química característica y su precursor es el colesterol. Estas hormonas son liposolubles y se mueven fácilmente a través de las membranas celulares. Como consecuencia, éstas no se almacenan y abandonan las células en las que son

producidas casi inmediatamente. Una señal para producir hormonas esteroideas es también una señal para liberarlas, aunque el retraso entre el estímulo y la respuesta puede ser de horas (17).

La acción de los esteroideos en los tejidos blanco depende de tres factores: la concentración de la hormona en sangre, el número de receptores disponibles y la disponibilidad de co-activadores apropiados. La concentración en sangre de esteroideos también depende de tres factores: la tasa de biosíntesis de los esteroideos, la tasa de degradación de los mismos por el catabolismo (principalmente en el hígado) y la afinidad con la que el esteroide se une a la proteína transportadora en el plasma (17).

Existen dos tipos de hormonas hipófisis adrenocorticales: glucocorticoides y mineralocorticoides. Los glucocorticoides como la corticosterona y el cortisol tienen un metabolismo similar al de los carbohidratos y son liberados frecuentemente en respuesta a un estímulo estresante, ya que afectan las rutas metabólicas para asegurar que se encuentre energía suficiente disponible en el individuo para enfrentarse al alto requerimiento metabólico que ocurre en estas situaciones (23).

La mayoría de los vertebrados liberan corticosterona o cortisol, pero raramente se producen ambos en grandes cantidades. Todos los reptiles, aves y algunos mamíferos secretan corticosterona. Las ratas y ratones secretan únicamente corticosterona, pero el glucocorticoide primario secretado por humanos y otros primates es el cortisol. La hormona adrenocorticotropa (ACTH) estimula la secreción de corticoides por la corteza adrenal (17).

Los glucocorticoides se liberan en situaciones de estrés, y esta liberación es adaptativa. Esta respuesta ayuda al individuo a enfrentarse a una situación de emergencia crítica. Idealmente, la respuesta al estrés se activa por un estímulo estresante y se desactiva poco tiempo después de que la emergencia pasa. La función fisiológica del incremento de glucocorticoides debido al estrés es proteger al individuo no contra la fuente del estrés, sino contra las reacciones de defensa normales

que son activadas por el estrés. Los glucocorticoides lo logran "apagando" las reacciones de defensa (24).

Condiciones crónicas de estrés transforman la condición adaptativa de la respuesta aguda en una condición patológica que compromete la salud y la sobrevivencia (24,25,26). Los efectos patológicos del estrés crónico involucran procesos cardiovasculares, metabólicos, reproductivos, digestivos, inmunes y anabólicos (17,24). Con la liberación prolongada de glucocorticoides, la pérdida de músculo es inevitable y en casos severos el estrés puede producir la pérdida irreversible de las células musculares en el corazón (10,17,24).

La hipótesis de retroalimentación explica cómo la corticosterona puede afectar la sumisión, porque ésta únicamente ocurre después de que ha habido una experiencia de ataque o amenaza. La experiencia de la derrota produce una disminución en la agresión y aumento en la sumisión. En ratones experimentales sin encuentros agonísticos previos en los que se produjeron artificialmente niveles hormonales similares a los encontrados después de una derrota (aumento de corticosterona y disminución de testosterona), se observó la misma respuesta de cualquier ratón cuando se enfrenta a un individuo por primera vez: elevada agresión, amenazas y defensa. Este encuentro estuvo diseñado para que fuera derrotado, ya que el contrincante era un ratón dominante, de mayor tamaño. Cuando se volvieron a enfrentar a otro ratón dominante presentaron una disminución en la agresión y un aumento en la sumisión en comparación con individuos a los que no se les manipularon los niveles hormonales antes del primer encuentro (16).

Los efectos de la corticosterona en roedores se pueden explicar de la siguiente manera: la derrota provoca un aumento en los niveles de corticosterona, lo que después facilita la ocurrencia de la sumisión. Entre mayor sea la respuesta de la corticosterona en una derrota, el animal se rendirá con mayor rapidez y viceversa. Esta secuencia muestra que los factores conductuales y hormonales interactúan para determinar modificaciones y respuestas conductuales de la agresión (16).

La derrota en encuentros agonísticos produce cambios hormonales: niveles notablemente bajos de andrógenos y un aumento en la secreción adrenocortical en mamíferos, pájaros, anfibios y peces (9). En la rata y el ratón, los niveles de andrógenos parecen afectar los ataques ofensivos, pero no la sumisión o el evitar dichos ataques (27). Varios estudios han demostrado que los andrógenos no son importantes para la respuesta sumisa, por ejemplo, aunque las ratas castradas no son agresivas, si son atacadas pelearán en respuesta, mostrando que nos son particularmente subordinadas (2).

Aunque altos niveles de testosterona facilitan una conducta agresiva en aves adultas, la administración artificial de testosterona frecuentemente es insuficiente para superar los efectos del condicionamiento social. La "Hipótesis reto" sostiene que la testosterona permanece en bajos niveles en las relaciones agonísticas estables y la secreción aumenta para intensificar la agresión cuando un animal dominante responde ante una amenaza a su status privilegiado (28,29). Debido a que el aumento en los niveles de testosterona puede incrementar la agresividad en muchas especies, una posibilidad es que ganar los encuentros agresivos facilite la secreción de testosterona y que por lo tanto aumente la subsecuente agresividad en peleas posteriores (1). Según esta hipótesis, el aumento de testosterona sólo debería existir cuando el individuo se enfrentara ante un contrincante que en realidad representa una amenaza y no en cualquier pelea rutinaria en la que sólo refuerza su papel de dominante (29).

Los roedores con altos niveles crónicos de hormonas hipofisarias – adrenocorticales son más sumisos que los que tienen niveles intermedios de estas hormonas. Los ratones adrenalectomizados y tratados durante tres semanas con 75 µg/día de corticosterona fueron igual de sumisos que los controles con experiencia de subordinados no adrenalectomizados; además se observó un aumento progresivo en la sumisión en los grupos tratados con dosis más altas. En estos ratones la corticosterona facilita la sumisión, y además los efectos de la corticosterona se ejercen en

una forma de dosis – respuesta, es decir, entre más elevados sean los niveles de corticosterona, la sumisión será mayor, aunque no siempre se ha encontrado significancia estadística en esta relación de dosis – respuesta cuando se administran 100 – 300 $\mu\text{g}/\text{día}$ de corticosterona, pero sí cuando las dosis administradas son de 350 $\mu\text{g}/\text{día}$ (21).

La hormona hipófisis adrenal crítica en la sumisión es la corticosterona, ya que su importancia se ha demostrado de dos maneras. Primero, el tratamiento con ACTH en ratones intactos aumenta la sumisión, pero esto no sucede en ratones a los que se les controlan los receptores de corticosterona para evitar su acción y por lo tanto no pueden responder al aumento en los niveles de corticosterona que ocasiona la administración de ACTH (16). En segundo lugar, el tratamiento directo con corticosterona produce también aumento en la sumisión independientemente de los niveles de ACTH circulante en roedores. Los resultados son similares a los que se obtienen cuando se administra ACTH sin bloquear los receptores para corticosterona (2). Politch y Leshner (1979) encontraron en ratones que los niveles elevados de ACTH independientemente de la corticosterona no afectan la sumisión y los niveles elevados de corticosterona son los que determinan la sumisión en el ratón (21).

Por otro lado, la secreción de corticosterona mantiene y restaura la homeostasis en respuesta a cambios ambientales. Kitaysky et al. (1999) mostraron que la liberación de corticosterona en pollos de gaviotas de patas negras (*Rissa tridactyla*) hambrientos, les permite recuperar las reservas de energía agotadas aumentando su conducta de solicitud y por lo tanto la de los padres que aumentan la alimentación (30). Kitaysky et al. (2001b), aplicaron cápsulas silásticas con corticosterona a pollos de gaviota de patas negras en un grupo y a uno de los padres de cada nidada en otro grupo. Los niveles de corticosterona se triplicaron. En adultos la corticosterona aumentó a valores similares de adultos con pollos en épocas de escasez de alimento. Los pollos con

corticosterona artificial solicitaban alimento con mayor frecuencia que los de los papás con corticosterona artificial y más que los pollos sin corticosterona artificial. Los pollos con corticosterona artificial en nidadas de dos solicitaban casi el doble que los pollos con corticosterona artificial en nidadas de uno, fenómeno que no se observó en las nidadas control de uno versus dos pollos. Los pollos experimentales con corticosterona fueron alimentados con mayor frecuencia que los pollos de cualquier otro grupo. Los papás de pollos con corticosterona artificial hicieron más viajes lejos del nido que los que tenían hijos sin corticosterona, al igual que los adultos con corticosterona artificial, quienes también hicieron más viajes que los adultos sin corticosterona y que su misma pareja. Aunque los pollos de nidos de dos solicitaron casi el doble que en nidos de uno, los padres no los alimentaron el doble, únicamente se observó un aumento del 12% por nido. No se puede descartar la posibilidad de que los papás de pollos con corticosterona artificial, de alguna manera sean capaces de discriminar los cambios en la solicitud de los pollos debidos a cambios en la condición corporal y a cambios que reflejan la interacción social entre hermanos de una nidada. Este es el único registro existente de implantes de corticosterona en crías de aves, es en crías de gaviotas de patas negras (31).

Se cree que la corticosterona puede jugar un papel muy importante en el mantenimiento del estatus social de los machos subordinados de lagartija café (*Anolis sagrei*) al inhibir su respuesta agresiva en futuros encuentros agonísticos con otros machos, ya que cuando se exponen a estresores ambientales o sociales son menos agresivos cuando se enfrentan con otro macho por primera vez. Cuando de forma crónica se les administró corticosterona a machos de lagartija café, se encontró que el peso de los testículos fue significativamente más bajo que en los machos del grupo control que no fueron tratados y la actividad espermatogénica se encontró disminuida en el primer grupo. Esta inhibición en la agresión puede deberse a que la corticosterona inhibe la síntesis

testicular de andrógenos, ya que está bien establecido que en mamíferos, la actividad gonadal, incluyendo la síntesis de andrógenos, se inhibe por la alta actividad hipófisis – adrenal (9).

Aunque el aumento a largo plazo en la función hipófisis – adrenocortical puede ser responsable directa o indirectamente de la disminución en el potencial reproductivo o sobrevivencia, algunos de estos cambios conductuales como aumento en la sumisión o aumento en la alimentación causados por los cambios hormonales, pueden tener un valor adaptativo a corto plazo en los animales subordinados porque reducen el gasto de energía por pelear y el riesgo de heridas por dichas peleas (2,31). Los animales subordinados deben ser menos agresivos, más sumisos y menos responsivos a un ataque o amenaza debido a los altos niveles de ACTH y corticosteroides y a la disminución en los niveles de andrógenos (19).

En la codorniz japonesa (*Coturnix coturnix*) se midieron niveles de corticosterona tanto en ganadores como en perdedores después de encuentros agonísticos de dos minutos en un territorio neutral. Los niveles de dicha hormona bajaban notablemente inmediatamente después de terminada la pelea en todos los individuos (33). Cinco minutos después, se encontró un pico de corticosterona en los ganadores, siendo mayor que los niveles de los controles, quienes no se enfrentaron en ninguna pelea, sólo se colocaron en el área de pelea durante el mismo tiempo que los individuos experimentales. A los 32 y 62 minutos, los niveles de corticosterona plasmáticos de las codornices, tanto en ganadores como en perdedores, fueron mayores que en los individuos del grupo control. Doce minutos después de la pelea, los patrones de fluctuación en los niveles hormonales en los ganadores, perdedores y control eran comparables, excepto por un segundo pico significativo en los controles a los 62min. Estos resultados muestran que la acción de la corticosterona se presenta de forma aguda y es rápidamente reversible (33,34).

d) Corticosterona y agresión

Los niveles de glucocorticoides aumentan después de periodos de estrés social como en el establecimiento de jerarquías de dominancia o territorios. En los mirlos de alas rojas (*Agelaius phoeniceus*) se encontraron niveles de testosterona y corticosterona elevados en los machos con un territorio establecido durante la temporada reproductiva en comparación con los machos sin territorio y con los machos juveniles. Los machos con altos niveles de corticosterona tenían harems más grandes. Hubo una correlación positiva entre los niveles de corticosterona y el número de nidos construidos en el territorio de cada macho y el número de crías emplumadas que se produjeron. Estos resultados son de individuos dominantes dentro de un grupo que tiene elevados niveles de testosterona y de corticosterona al mismo tiempo, por lo que esta hormona no está ejerciendo ningún efecto en la sumisión. En estos individuos tampoco se encontró que la masa corporal estuviera reducida (2).

Típicamente todos los individuos involucrados en interacciones agonísticas muestran un aumento en los glucocorticoides, siendo los perdedores o los subordinados los que más altos niveles de corticosteroides presentan, comparados con los ganadores o los controles. En contraste, en los machos ganadores del pato golondrino norteño (*Anas a. acuta*) (que tenían éxito compitiendo por una pareja y estableciendo dominancia mediante conductas agresivas) se encontró un aumento en la corticosterona. Los niveles de esta hormona en los individuos que no encontraron una pareja y en los controles que no tenían hembras disponibles fueron similares. El aumento en los ganadores fue rápido y de corta duración. La tasa de agresión de los machos con pareja también disminuyó rápidamente. Posiblemente los niveles de corticosterona elevados no son necesarios una vez que el macho tiene una pareja asegurada y ha establecido una dominancia, ya que así evita los efectos degenerativos de mantener los niveles elevados de corticosterona por un periodo prolongado de tiempo (35,36,37). Los niveles de corticosterona similares entre los machos elegidos y los machos

no elegidos, sugieren que el aumento de la concentración de corticosterona es el factor importante en mediar la agresión durante esta situación socialmente estresante, y no el nivel absoluto de la corticosterona. Este resultado indica que los mecanismos hormonales que controlan la conducta agonística pueden ser más variados de lo que se pensaba. La corticosterona puede ser más importante que la testosterona en mediar la agresión en algunas situaciones sociales y/o taxis y no debe contemplarse únicamente en el ámbito reproductivo (38).

Los reportes de niveles elevados de glucocorticoides en individuos ganadores o dominantes son raros. Después de enfrentamientos entre machos en lagartijas *Urosaurus ornatus* los ganadores tenían niveles más altos de corticosterona que los controles que no se enfrentaron con otro macho (9). En perros salvajes africanos (*Lycaon pictus*) y en mangostas (*Helogale parvulata*), los dominantes tienen niveles más altos de glucocorticoides que los subordinados, aparentemente debido a que los individuos dominantes frecuentemente obtienen su rango al iniciar interacciones agresivas estresantes más seguido que los subordinados (19).

Rohwer y Wingfield (1981) encontraron en gorriones Harris (*Zonotrichia querula*) una correlación positiva entre corticosterona y dominancia cuando las condiciones climáticas eran desfavorables. Estos gorriones tienen jerarquías de dominancia y tanto individuos dominantes como subordinados se ven beneficiados al vivir juntos en grupos, ya que los subordinados sirven a los dominantes como buscadores de comida y los subordinados se benefician de los dominantes al ser protegidos de otros dominantes ajenos al grupo. Los niveles de corticosterona en estas aves se encontraron aumentados en los dominantes cuando las fuentes de alimento en el piso eran inaccesibles por la presencia de nieve. En subordinados los niveles se mantuvieron igual que antes de las condiciones adversas (39).

Todos estos resultados nos indican que individuos con altos niveles de testosterona pueden presentar ocasionalmente picos de corticosterona provocados por factores de estrés y que estas

elevaciones no interfieren con el papel de dominantes que tienen dentro de un grupo, además de que dicho aumento en corticosterona es necesario para su sobrevivencia, aunque sólo se han encontrado aumentos durante periodos cortos de tiempo y bajo situaciones especiales. Esto nos confirma que las hormonas no pueden "transformar" a un individuo con una jerarquía social previa en un individuo con una menor o mayor jerarquía y que la experiencia es indispensable para la existencia de dichas jerarquías (40).

4. Endocrinología conductual en el bobo de patas azules

Núñez de la Mora et al (1996) encontraron que las crías menores subordinadas de bobo de patas azules de entre 15 y 20 días de edad tenían niveles circulantes de corticosterona de 14.8ng/ml, estos valores fueron 109% más altos que en las crías mayores (8ng) y en las únicas (7ng) (41).

Para conocer la relación hormonal entre la relación de dominancia - subordinación y el agonismo inducido por hambre, pollos de nidadas naturales de uno y dos se sometieron a una supresión total de alimento durante 48 horas aplicando cinta micropore en el cuello de los pollos. En casos anteriores se ha observado que el no ingerir alimento ocasiona un aumento substancial en ataques y amenazas agresivas del pollo dominante. Los niveles de corticosterona después de 48 horas de la privación de alimento fueron 130% mayores en subordinados, dominantes y crías únicas comparados con los niveles iniciales y con el grupo al que no se le restringió el alimento, implicando que la secreción aumenta en respuesta a la frustración y al hambre y no necesariamente a la agresión o a otro aspecto de la interacción entre hermanos. La corticosterona se secreta aún en ausencia de estrés asociado con ser subordinado, ya que los dominantes y los pollos únicos presentaron niveles altos de esta hormona después de la supresión alimenticia y no estuvieron expuestos a ningún tipo de agresión (41).

Después de quitar las cintas que impedían la alimentación, los niveles de corticosterona disminuyeron 64% en 24 horas, lo que demuestra que la respuesta fisiológica al estrés es reversible y que el organismo tiene la capacidad de restablecer la homeostasis después de quitar el factor estresor (41).

En ninguna de las mediciones hormonales (antes de poner las cintas y dos días después cuando se quitaron) se detectaron estradiol ó testosterona, lo cual implica que la testosterona no está involucrada en el establecimiento de dominancia ni en el aumento de la agresión en respuesta a la disminución del alimento (41).

Existe la posibilidad de que los altos niveles de corticosterona sean en parte, causa del aumento en la agresión de los dominantes hambrientos. Cuando los dominantes tenían niveles de corticosterona 132% mayores a sus niveles basales, aumentaron los actos agresivos notablemente y no aumentaron la sumisión. Posiblemente el aumento en la corticosterona provocó que todos los pollos experimentales fueran más responsivos a estímulos externos, provocando más agresión de los dominantes y facilitando la sumisión de los subordinados (41).

La testosterona podría facilitar la conducta agonística de los pollos dominantes, pero la nula diferencia entre los niveles de los dominantes y los subordinados hace poco posible que la hipótesis reto pueda aplicarse a esta especie. Ramos - Fernández (2000) puso a prueba la "hipótesis reto" midiendo niveles de testosterona y corticosterona en nidadas naturales y artificiales de dos pollos de bobo de patas azules de entre 1 y 12 días. Se encontraron niveles detectables de testosterona en algunos pollos únicos, mayores y menores de nidadas naturales, lo que puede deberse a la gran variabilidad en los niveles de testosterona individuales o por la pobre sensibilidad de los análisis a concentraciones bajas ($\leq 0.06\text{ng/ml}$) (42). Ramos Fernández (1993) encontró $32 \pm 4\text{ng/ml}$ de corticosterona en sangre en crías subordinadas de entre 10 y 20 días de edad. No encontró ninguna diferencia significativa entre dominantes y subordinados, aunque sí observó la tendencia de tener

niveles más altos en crías subordinadas (43). Núñez de la Mora et al. (1993) si encontraron diferencias en pollos de entre 15 y 20 días de edad (41). Posiblemente en crías menores de 12 días, ambos pollos de la misma nidada se encuentren bajo el estrés de una relación no definida de dominancia – subordinación, mientras que a los 15 días de edad del dominante esta relación está ya definida y los pollos menores tienen altos niveles de corticosterona debido a su experiencia de perdedores y a su estado de subordinados. Otra posibilidad es que antes de los 12 días de edad ambas crías padezcan hambre por la dificultad de la regurgitación del adulto a la cría y a una edad mayor (15 a 20 días) la cría dominante empiece a alimentarse adecuadamente y así el estrés alimenticio disminuya (42).

Para probar la hipótesis reto en pollos de 13 a 20 días de edad se formaron los siguientes pares: 9 pares de únicos con subordinados un poco más pequeños: 5 con subordinados residentes y el pollo único introducido y 4 de subordinados introducidos con residentes únicos; 11 pares de únicos con dominantes un poco más grandes: 5 de dominantes residentes con únicos introducidos y 6 de dominantes introducidos con únicos residentes (43).

En los pares experimentales no se encontraron niveles circulantes de testosterona en ninguno de los pollos. Los pollos de las diferentes categorías (únicos, dominantes o subordinados) de los pares experimentales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre categorías en los niveles de corticosterona después de 4 horas de interacciones. Cuando se midieron los niveles promedio de corticosterona después de cuatro horas de enfrentamiento y se compararon con los niveles de pollos sin manipulación de la misma categoría, se encontró que los niveles de los dominantes y pollos únicos apareados con dominantes o con subordinados eran significativamente mayores, mientras que en los subordinados eran similares. Para un pollo dominante acostumbrado a convivir con un hermano subordinado que cada vez que es agredido se somete, enfrentarse a un hermano no subordinado que ofrece batalla, representa una fuente de

estrés. Igualmente, para un pollo único, el convivir con otro individuo, ya sea dominante o subordinado, provoca una respuesta de estrés. Para un subordinado la presencia de un pollo único picoteándolo o amenazándolo no representa un cambio substancial en lo que ha vivido desde que nació, por lo que no existe alguna respuesta de estrés diferente a la que ya existía y los valores de corticosterona se mantienen igual (43).

Drummond y Canales (1998) observaron que cuando los pollos dominantes se enfrentaban a un pollo único de mayor tamaño eran seis veces más agresivos que el pollo único durante las primeras cuatro horas de enfrentamiento, pero para el sexto día de convivencia la mitad de los pollos dominantes había perdido su papel de dominante. En cambio, en el sexto día todos los pollos subordinados que se habían apareado con pollos únicos más pequeños mantenían su papel de subordinado (44).

El hecho de que los dominantes de nidadas experimentales hayan mostrado un aumento en la agresión durante las primeras cuatro horas de interacción cuando sus niveles de corticosterona eran significativamente mayores que en los individuos control, puede ser una evidencia de que existe una relación entre la corticosterona y la agresión en vertebrados (2,9,24,42,45,46), pero no se puede afirmar que el aumento en la agresión de dominantes y únicos haya sido ocasionado por el aumento en los niveles de corticosterona. En ninguno de los casos existe la evidencia suficiente como para afirmar que el aumento en los niveles de corticosterona haga a los individuos más agresivos. Esto sólo se podría afirmar si se administrara corticosterona a individuos dominantes de nidadas naturales de dos y se observara un aumento en la agresión comparando la agresión antes de la administración de la hormona con la agresión después de la administración.

5. Objetivos

Encontrar si existe una relación entre los elevados niveles de corticosterona y la tendencia de ser más sumisos en crías subordinadas de bobo de patas azules.

6. Hipótesis

La corticosterona en individuos subordinados facilita la conducta sumisa.

7. Predicciones

Un aumento artificial de corticosterona provocará más respuestas sumisas ante las agresiones y más sumisiones espontáneas.

III. MÉTODOS

1. Zona de estudio y sujetos experimentales

Los datos se obtuvieron en marzo del 2002, durante la temporada de anidación del bobo de patas azules en la 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 de dos crías 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 las nidadas disponibles durante el período de trabajo, se utilizaron 34 nidadas con dos crías en donde la cría menor tuviera 12 días de edad (de 11 a 14 días de edad), edad a la que ocurre con frecuencia la reducción de la nidada (12). En las nidadas donde no se tenía registro de eclosión, se estimó la edad de las crías con base en las curvas de crecimiento de primeras y segundas crías eclosionadas en el mismo rango de fechas de esta temporada.

2. Diseño experimental

A 34 crías subordinadas de 12 días de edad se les implantó una cápsula silástica debajo de la piel del lado del tórax. A 17 de ellas se les implantó la cápsula llena de corticosterona cristalina y a las otras 17 con una cápsula vacía.

Las nidadas se incluyeron en la muestra y se les designó como control o experimental de forma aleatoria cada vez que se presentó un par de éstas en la colonia con las características necesarias (antes mencionadas en la muestra).

Se hicieron observaciones conductuales el día uno y dos a las 0700h ó a las 1500h, dependiendo de la cantidad de nidadas disponibles ese día durante tres horas para tener la certeza de que la cría menor era la subordinada en cada nido y para tener registros base de agresión. Cada nidada se observó y manipuló siempre a la misma hora a la que se observó el primer día. La mitad

de las nidadas en la muestra fueron observados durante la mañana y la otra mitad por la tarde. El día dos después de las observaciones se tomó una muestra de sangre y se implantó la cápsula silástica. Debido a que la corticosterona ejerce un efecto a partir de las primeras 24 horas de aplicación y durante 4 días más (Wingfield, J.C. 2002. Comunicación personal), se registró la conducta de cada nidada durante ese tiempo. En el día 6 después de haber terminado las observaciones conductuales, se tomaron muestras de sangre de las crías subordinadas de ambos grupos y se retiró la cápsula.

3. Registro de conducta

Las variables dependientes que se registraron fueron: agresiones (picotazos, mordidas y empujones), gritos agresivos, sumisiones espontáneas y alimentaciones. Se registró la frecuencia absoluta de cada uno de los eventos (picotazos; mordidas, empujones, gritos, sumisiones espontáneas y alimentaciones) anotando en cada caso si la víctima del acto agresivo respondió con sumisión –es decir, adoptando o manteniendo la postura sumisa de BDFA (Bill down and face away). Además se realizó un barrido cada 30s, en el cual se registró si las crías estaban dormidas o despiertas y si estaban ó no solicitando.

Los observadores no supieron si observaron una nidada experimental o una nidada control, ya que una persona se encargó de asignar el tratamiento a cada par de nidadas de forma aleatoria y cambió los anillos de la cría para no reconocer su identidad en el momento de colocar la cápsula. Además la persona que colocó la cápsula nunca regresó los pollos a su nido original.

4. Criterios de registro

Agresión: Impacto de la punta del pico (cerrado o abierto) sobre el cuerpo de la otra cría ó las dos mandíbulas prensando el cuerpo de la otra cría.

Grito: Cualquier vocalización agresiva seguida por adopción de una postura de sumisión.

Sumisión clásica: Cualquier postura de BDFA que no fuera simplemente un intento de esconderse o retirarse de la zona de peligro, sino una postura exagerada y aparentemente diseñada para ser vistosa (para funcionar como señal) en respuesta a un ataque de la otra cría.

Sumisión: Para cada conducta agresiva (picotazo, mordida, empujón o grito) se registró si la víctima adoptó o mantuvo una postura de BDFA.

Sumisión espontánea: Cuando el pollo presentó la postura de BDFA sin haber recibido ningún ataque previo. Sumisión que ocurre ante cualquier otro estímulo excepto la agresión de la otra cría.

Dormida: Cabeza sobre el sustrato (piso u otra cría) y *despierta* es con la cabeza levantada. No importó si los ojos estaban cerrados o abiertos. Si la cabeza de la cría estaba invisible abajo del adulto, se consideró como dormida.

Alimentación: Cuando los picos del adulto y del pollo se unieron y se observó que un bulto de pescado causó distensión del cuello del pollo.

Solicitud: Cuando uno de los pollos dirigía el pico dirigido hacia arriba con movimientos oscilatorios del mismo y/o vocalización intermitente de solicitud.

Cada impacto de mandíbulas contra el hermano se consideró una agresión. Cada vez que el sujeto renovó el movimiento con un nuevo apretón o desplazamiento, se registró otro evento, no importando que no soltó o se alejó de la víctima antes de renovar el movimiento.

5. Obtención de las muestras de sangre

Las muestras de sangre se obtuvieron en un tiempo límite de cinco minutos desde la llegada al nido hasta la obtención de la muestra para evitar elevación en los niveles de corticosterona por estrés debido a la manipulación. Una vez alejados los padres del nido, se tomó a la cría y se le inmovilizó, dejándole un ala libre para tomar la sangre del ala braquial (en la unión de la ulna y el cúbito). Se

extrajo de 0.5 a 1ml con jeringas herparinizadas y de éstas se transfirió a un tubo ependorff para centrifugar. Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta que fueron centrifugadas a 9000r.p.m. durante 8min (41). Después se eliminó el coágulo y se mantuvieron en congelación hasta su posterior análisis.

Se tomaron muestras de sangre el día 2 después de la observación de conducta antes de aplicar la cápsula y el día 6 después de la observación de conducta antes de quitar la cápsula. Se agregaron 10 μ l de β -propiolactona (inactivador viral) al 3% para satisfacer las regulaciones de importación a EUA y continuar el análisis en el laboratorio.

6. Implante de la cápsula silástica

En el día dos después del registro de conducta y después de haber tomado la muestra de sangre, se colocó una cápsula silástica de 20mm (llena con corticosterona cristalina para el grupo experimental o vacía para el grupo control) debajo de la piel del ala del lado derecho. Después de haber flameado con alcohol el material quirúrgico y de haber limpiado el área de la incisión con alcohol, se realizó el siguiente procedimiento: con unas pinzas se levantó la piel cuidadosamente y se realizó una pequeña incisión (3mm) con unas tijeras. Con la misma pinza se tomó el implante y se colocó dentro de la incisión cuidadosamente en una posición en la que no fuera fácil salirse con la actividad normal del pollo. Se selló con un gel promotor de la cicatrización y con una cinta adhesiva. Al sexto día del experimento después de la observación conductual y de la toma de la segunda muestra de sangre, el implante se retiró. Se tomaron las mismas precauciones de limpieza para el material y la piel de la cría. Una vez retirado el implante, se volvió a aplicar el gel cicatrizante. Las crías nunca presentaron signos de infección en la herida causada por el implante de la cápsula cuando se retiró en el día 6. Dos días después de retirar el implante se revisó la herida de todos las crías y siempre se encontró cerrada y limpia.

7. Medidas

Todas las crías se midieron (pico y peso) y anillaron el día 1 y se volvieron a medir el día 6 después de tomar la muestra de sangre. Para evitar confusión de identidad, las crías se pintaron en cabeza y cola antes de la observación.

8. Análisis de la corticosterona

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 en Seattle, EUA, según el protocolo de análisis de esteroides de Wingfield y Farner, 1975 (47).

a) Preparación de las muestras

Se equilibraron 20µl de suero correspondiente a cada muestra a 4°C durante toda la noche con cantidades traza de corticosterona marcados con tritio, 2000cpm (10pg/tubo). 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 "frio" (no radioactivo) (1000pg de Corticosterona) fungió como estándar y sirvió para calcular la variación interensayo.

b) Extracción

A cada muestra se le agregaron 5ml de diclorometano (calidad reactivo ACS) previamente destilado, se agitaron y se incubaron 2hrs 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. La corticosterona adherida al fondo del tubo, se disolvió en 1ml de acetato de etilo (previamente destilado) en iso – octano (calidad nanogrado) al 10% (fase móvil).

c) Preparación para el RIA y recuperación

Las soluciones de corticosterona eluidas se evaporaron con nitrógeno en un baño a 40°C, y la

fracción restante de corticosterona se redisolvió en 1ml de amortiguador de fosfatos 0.1M con gelatina, pH 7.0 (PBSG). Se tomaron alícuotas de 0.2ml y se pusieron en líquido de centelleo para obtener los valores de recuperación para cada muestra.

d) Radioinmunoanálisis (RIA)

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

B1 (cuentas totales) = 0.3ml de PBSG, 50pg/tubo de corticosterona marcada (a este tubo no se le añadirá la solución de carbón – dextrán en PBSG).

B2 (unión no específica o blanco) = 0.3ml de PBSG, 50pg/ tubo de corticosterona marcada.

B3 (unión máxima o Bmax) = 0.2 ml de PBSG, 50pg/tubo de corticosterona marcada, 0.1ml de solución de anticuerpo ajustada previamente a una unión máxima de 35 – 50% (Endocrine Sciences).

S1 –S9 (curva patrón) = 0.1ml de una solución de corticosterona diluida en serie de 2000pg/ml, 0.1ml de corticosterona marcada con tritio, 0.1ml de la solución de anticuerpo.

Al mismo tiempo, 0.1ml de cada solución de muestra a examinar, se combinaron por duplicado con 0.1ml de corticosterona marcada y 0.1ml de solución de anticuerpo. Todos los tubos se incubaron durante 24 horas a 4°C. Se agregaron a todos los tubos (excepto a B1) 0.5ml 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. Se requirieron dos rondas de centrifugación para cubrir todos los tubos y se preparó una curva patrón (B1 a S9) extra para la segunda centrifugación, para eliminar la posible variación entre centrifugaciones.

e) Conteo

Todos los tubos del RIA y los de los valores de recuperación se vaciaron en frascos con 4.5ml de líquido de centelleo (omnifluor en tolueno 4gr/l), se dejaron equilibrar en la oscuridad toda la noche y

posteriormente se contó la radioactividad presente en un contador de centelleo (radiación beta).

f) Cálculo de la concentración de corticosterona y validación del RIA

Para conocer la concentración de hormona presente en cada tubo de muestra problema, se trazó una curva estándar con los valores B y S. Primero se promediaron los valores de cada grupo de tubos de B2 a S9 y de las muestras problema, y el valor de B2 se le restó a todos los demás promedios. Cada nuevo valor 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 la abscisas se graficaron contra sus concentraciones estándar en escala logarítmica en las ordenadas, con lo cual se obtuvo una curva en la cual los valores B/Bo de las muestras problema pudieron ser leídos. El valor de recuperación para cada muestra se obtuvo dividiendo las cuentas totales entre cinco y dividiendo todas las cuentas de recuperación entre este valor.

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

$$\text{Concentración en pg/ml} = \frac{\text{valor de la curva (pg)} \times 10}{\% \text{ recuperación (decimal)}} \times \frac{1000}{\mu\text{l suero}}$$

El valor del blanco 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, se obtuvo del primer punto de la curva patrón en el que el valor de B/Bo \pm ee.

9. Análisis de CBG

Para este análisis se utilizó un pool de plasma para determinar primero si en las crías de BPA está presente esta proteína. Una vez que se encontró la proteína, se utilizaron 7 muestras de nidos con corticosterona en el día 6 y 7 muestras de nidos control en el día 6 porque es el límite de muestras que se pueden analizar en un ensayo y sirvió de análisis piloto para saber si existían diferencias de CBG entre grupos.

a) Separación de la corticosterona

En un tubo de ensayo se miden 60 μ l de plasma y se añaden 120 μ l de suspensión de carbón dextrán y se agita la mezcla. Se deja reposando a temperatura ambiente por 30 minutos. Centrifugar a 2000 rpm durante 10 min a 4°C y remover el sobrenadante.

b) El ensayo

Cada dilución de plasma tiene 6 tubos: 3 para la unión total (TB) y 3 para la unión no específica (NSB). Con la pipeta repetidora, se añaden las sustancias en el siguiente orden:

NSB	TB	Cuentas totales
50 μ l de Corticosterona fría (3 μ M)	50 μ l de buffer	
50 μ l de Corticosterona 3H (6nM)	50 μ l de Corticosterona 3H (6nM)	50 μ l de Corticosterona 3H
50 μ l de plasma	50 μ l de plasma	

Se agitó cada tubo y se incubó en el refrigerador durante mínimo dos horas.

c) Obtención de las CBG

En la máquina recolectora de CBGs (harvester) se puso el filtro y se colocaron los tubos con cada muestra en las agujas recolectoras y se le agregó y succionó buffer tres veces. Mediante este proceso las proteínas (unidas a la corticosterona radioactiva) se quedan en el filtro y la corticosterona y cualquier otro elemento se desechan con el buffer.

d) Cuento de CBG

El filtro con cada muestra se cortó y se puso en un tubo de centelleo. Se añadieron 5ml de líquido de centelleo y cada tubo se agitó durante 15 seg. Se dejó reposando durante toda la noche en un lugar obscuro y se colocó en el contador de centelleo a la mañana siguiente.

10. 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" (48).

Se aplicó la prueba de Kolmogorov – Smirnov para evaluar la normalidad de los datos (49). Los datos de conducta algunas veces se distribuían de forma normal y algunas veces no, dependiendo de la variable analizada, por lo que se unificó el criterio y se utilizaron pruebas no paramétricas para todos los datos conductuales.

Se calcularon las diferencias en los cambios entre el grupo experimental y el grupo control. Para cada variable conductual se restó el promedio de los días 3 y 4 (respuesta temprana) menos el promedio de los días 1 y 2 (línea base). También se restó el promedio de los días 5 y 6 (respuesta tardía) menos el promedio de los días 1 y 2. Se compararon las diferencias entre la línea base y la respuesta temprana y tardía de cada variable conductual entre el grupo experimental y el grupo control. Las diferencias se compararon utilizando la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Los nidos que empezaron el mismo día y a la misma hora se utilizaron como parejas (una en el grupo control y la otra en el experimental). Con esta prueba se eliminan los efectos de la hora del día y el día de la temporada en la que entró un par de nidos al experimento, pues las condiciones

ambientales eran las mismas para ambas nidadas.

Para comparar los niveles de corticosterona también se utilizó la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas con las diferencias de los valores del día 6 menos el día 2 utilizando los mismos pares que en las pruebas conductuales.

Para comparar la capacidad de CBG en ambos grupos se utilizó la prueba de t para muestras independientes, ya que las muestras analizadas no se escogieron por parejas de nidadas, sino aleatoriamente.

Para todas las pruebas se utilizó un intervalo de confianza global del 95% ($\alpha = 0.05$). Y se utilizó el programa STATISTICA, Sigma Stat y Sigma Plot para la realización de las pruebas estadísticas y las gráficas.

IV RESULTADOS

Ninguna de las crías implantadas manifestó malestar alguno ocasionado por la presencia de la cápsula. Tanto los adultos como los pollos de las nidadas manipuladas se comportaron de la misma forma que los individuos de nidadas no manipuladas. La presencia de los observadores no pareció alterar la conducta en las nidadas observadas, ya que los bobos con pollos son extraordinariamente tolerantes a la presencia humana (12).

1. Conducta

Los análisis estadísticos se realizaron usando tres tasas: Se utilizó la tasa por hora de observación para todas las conductas. Debido a que se encontró un cambio en la proporción de tiempo activo del pollo dominante y un aumento en la proporción de tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo en el grupo experimental, se utilizó la tasa por hora de tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo para la conducta agonística y la tasa por hora despierto cada pollo para la conducta alimenticia.

a) Sumisión

Sumisión en respuesta a una agresión. El cambio entre la línea base (días 1 y 2) y la respuesta temprana (días 3 y 4) en la proporción de agresiones que causaron cualquier tipo de sumisión, no fue diferente entre las crías subordinadas del grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=71$; $p=0.794$; $n=17$); el cambio en la proporción de agresiones respondidas con sumisión clásica tampoco fue diferente entre estos grupos (Wilcoxon; $T=68$; $p=0.687$; $n=17$) (Fig. 1).

Cuando se comparó el cambio entre la línea base y la respuesta tardía (días 5 y 6) en la proporción de agresiones respondidas con cualquier tipo de sumisión entre el grupo experimental y control en crías subordinadas, no se encontró diferencia (Wilcoxon; $T=53.5$; $p=0.82$; $n=17$). Dicho cambio en la

proporción de agresiones respondidas con sumisión clásica tampoco fue diferente entre grupos (Wilcoxon; $T=72$; $p=0.82$; $n=17$).

Sumisión espontánea. El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de sumisiones espontáneas por hora de observación, fue diferente entre las crías subordinadas del grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=34$, $p=0.044$, $n=17$) (Fig. 2). Las crías subordinadas del grupo experimental presentaron un aumento en la media de sumisiones espontáneas del 127% durante la respuesta temprana, mientras que el grupo control presentó un aumento en la media de tan sólo el 16% en los mismos días (Fig.2). Este mismo cambio en la tasa de sumisiones espontáneas, calculada por hora de tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo, no fue diferente entre los grupos (Wilcoxon; $T=63$; $p=0.52$; $n=17$); aunque el patrón fue similar al encontrado en la tasa de sumisiones espontáneas por hora de observación. Los subordinados del grupo experimental aumentaron 83% y los del grupo control aumentaron 32% (Fig. 2).

Cuando se comparó el cambio entre la línea base y la respuesta tardía en la tasa de sumisiones espontáneas por hora de observación, no fue diferente entre las crías subordinadas del grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=72$, $p=0.831$, $n=17$). Las crías subordinadas del grupo experimental presentaron una disminución en la media de sumisiones espontáneas del 32% y las crías del grupo control presentaron un aumento del 46%. El cambio entre la línea base y la respuesta tardía tampoco fue diferente en la tasa de sumisiones espontáneas por hora activos ambos pollos al mismo tiempo (Wilcoxon; $T=72$; $p=0.831$; $n=17$).

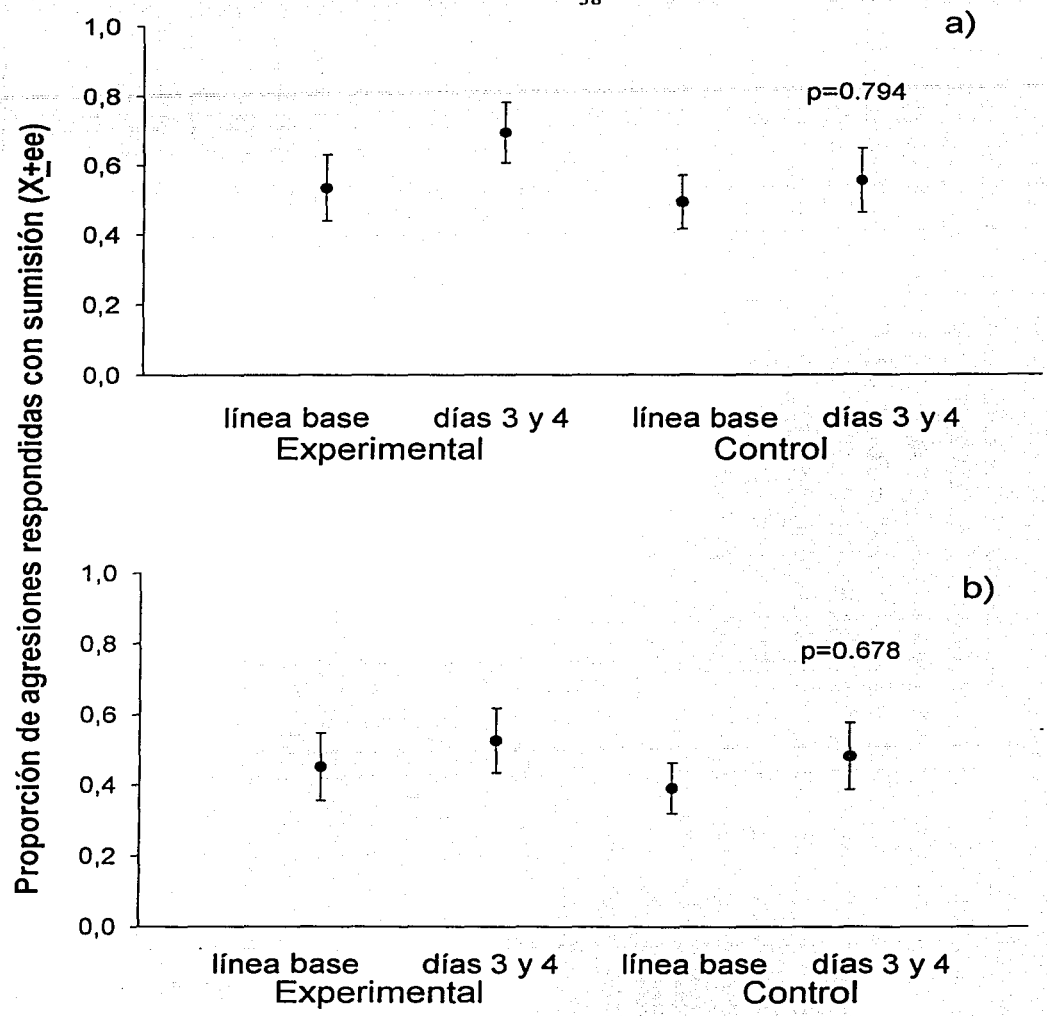


Fig. 1 Proporción de agresiones respondidas con a) cualquier tipo de sumisión (sumisiones totales) y b) sumisión clásica en los pollos subordinados (n=17 crías subordinadas en cada grupo).

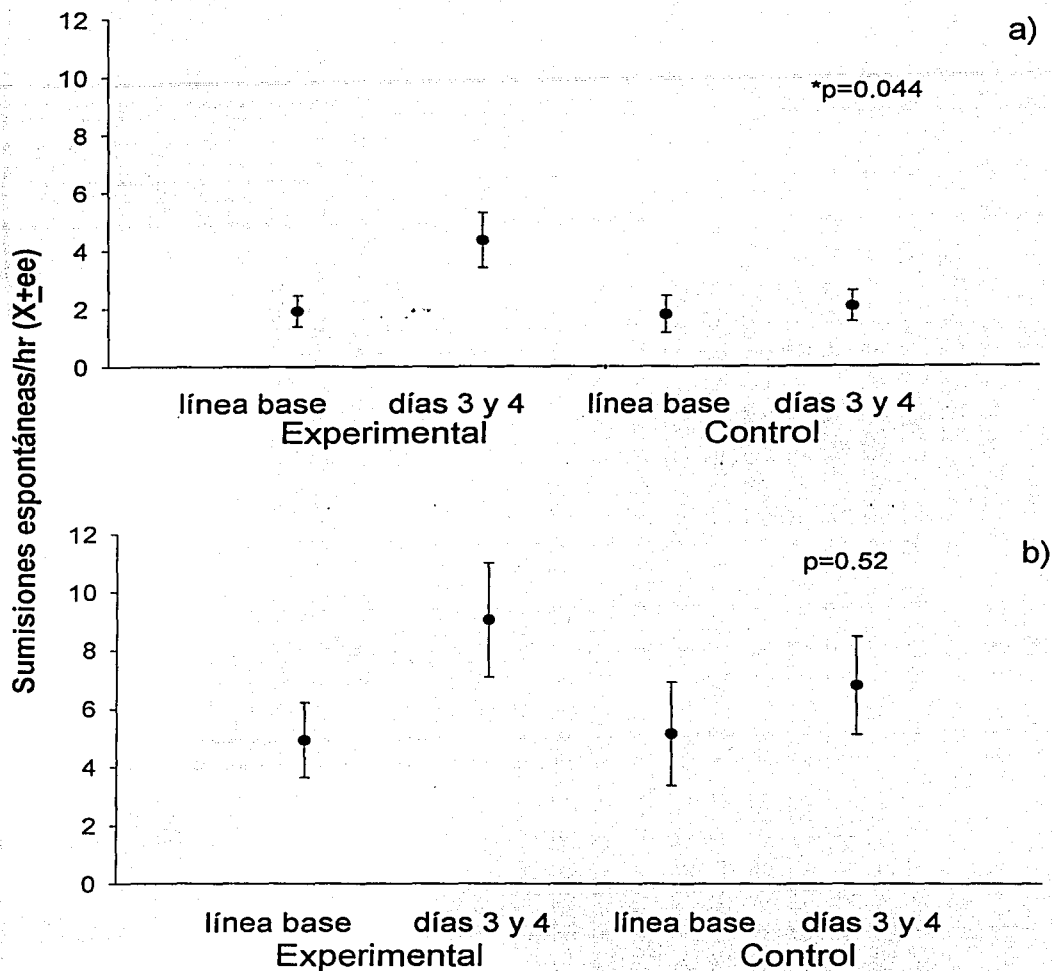


Fig. 2 Sumisión espontánea de los pollos subordinados a) por hora de observación y b) por hora de coincidencia despiertos los dos pollos de la nidada (n=17 crías subordinadas en cada grupo).

b) Tiempo de actividad

El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la proporción de tiempo activo por hora no fue diferente entre las crías subordinadas del grupo control y experimental (Wilcoxon; $T=50$; $p=0.209$; $n=17$); pero sí fue diferente entre las crías dominantes de dichos grupos (Wilcoxon; $T=12$; $p=0.0022$; $n=17$) (Fig.3). Las crías dominantes de nidadas experimentales presentaron un aumento en la media del tiempo activo del 20% durante la respuesta temprana, mientras que las crías dominantes de nidadas control presentaron una disminución del 4% (Fig.3).

Cuando se comparó el cambio entre la línea base y la respuesta tardía en la proporción de tiempo activo por hora de observación entre el grupo experimental y control en crías subordinadas, no se encontró diferencia (Wilcoxon; $T=41$; $p=0.092$; $n=17$), pero sí se encontró una diferencia en dicho cambio entre el grupo experimental y control en las crías dominantes (Wilcoxon; $T=24$; $p=0.012$; $n=17$) (Fig. 4). Las crías dominantes de nidadas experimentales presentaron un aumento en la media del tiempo activo del 25% durante la respuesta tardía, mientras que las crías dominantes de nidadas control presentaron una disminución del 9% (Fig. 4).

Tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo. El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la proporción de tiempo activos ambos pollos, fue diferente entre las nidadas experimentales y las nidadas control (Wilcoxon; $T=33$; $p=0.039$; $n=17$) (Fig. 5). Las nidadas experimentales presentaron un aumento en el tiempo activos ambos pollos del 35%, mientras que las crías de nidadas control presentaron una disminución del 8% (Fig. 5). Cuando se comparó el cambio entre la línea base y la respuesta tardía no se encontró diferencia (Wilcoxon; $T=39$; $p=0.075$, $n=17$) (Fig. 5).

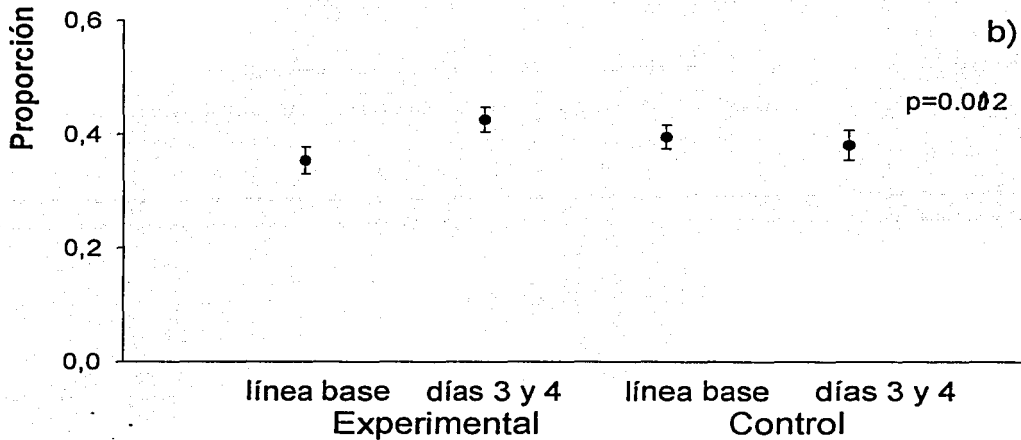
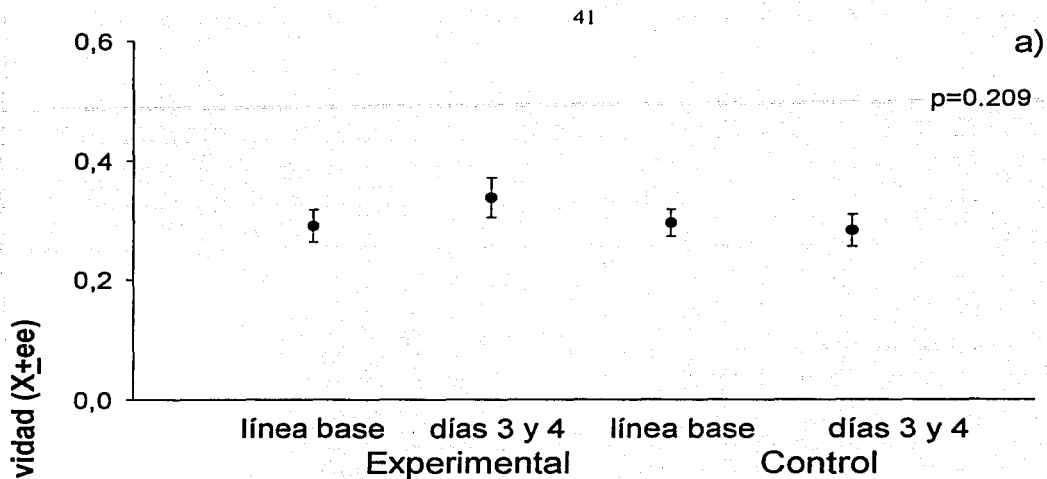


Fig. 3 Proporción de actividad por hora de observación en a) crías subordinadas y b) crías dominantes durante la respuesta temprana (n=17 crías en cada grupo).

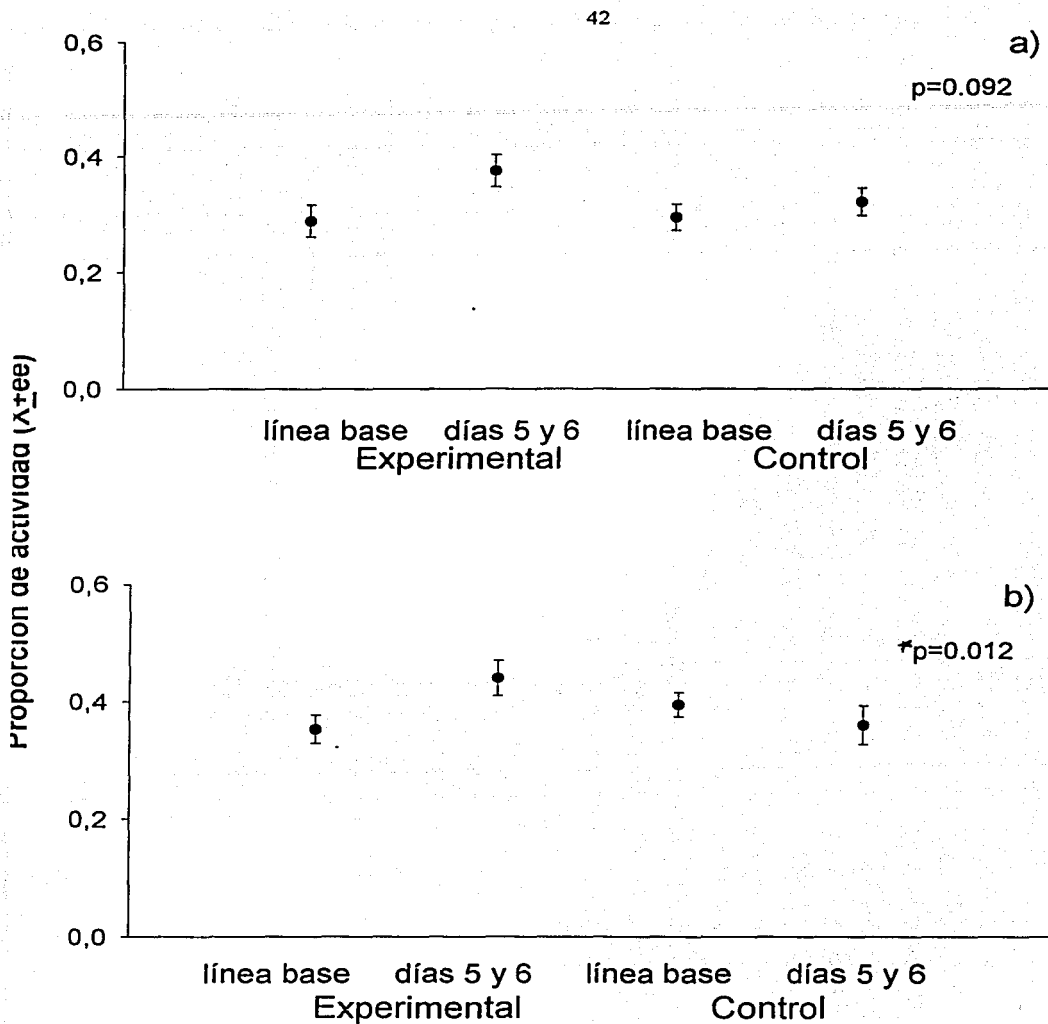


Fig. 4 Proporción de actividad por hora de observación en a) crías subordinadas y b) crías dominantes durante la respuesta tardía (n=17 crías en cada grupo).

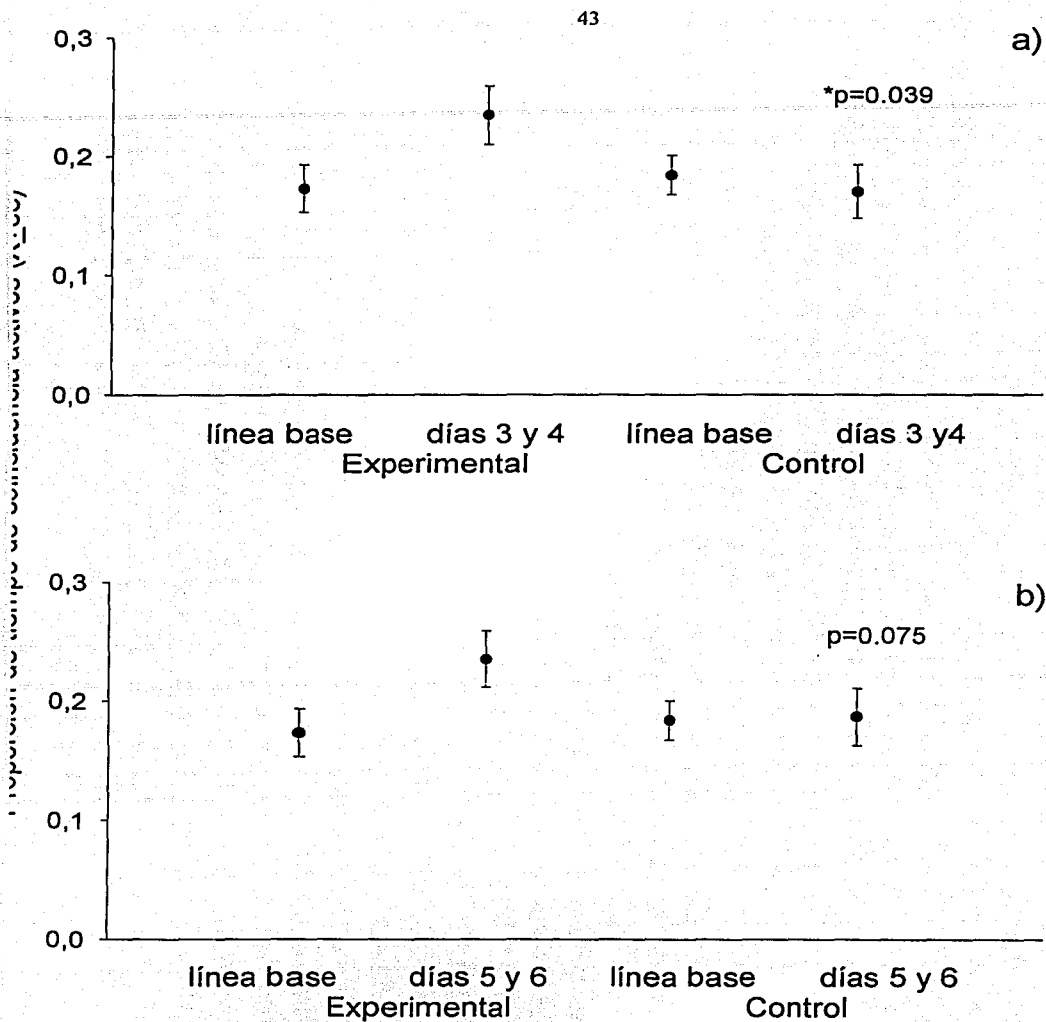


Fig. 5 Proporción de tiempo que ambas crías coincidieron activas durante la a) respuesta temprana y b) respuesta tardía.

c) Solicitud

El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de solicitud por hora de observación de las crías subordinadas no fue diferente entre el grupo experimental y el control (Wilcoxon; $T=63$; $p=0.522$; $n=17$). Tampoco se encontró diferencia en el cambio entre las crías dominantes del grupo experimental y control (Wilcoxon; $T=72$; $p=0.831$; $n=17$) (Fig.6), aunque sí se observó la tendencia de solicitar con mayor frecuencia en el grupo experimental. Las crías dominantes del grupo experimental aumentaron la solicitud 26% en comparación con la línea base, mientras que el grupo control disminuyó la frecuencia de solicitud en un 8% (Fig. 6). Este mismo cambio en la tasa de solicitud calculado por hora de actividad no fue diferente entre el grupo experimental y el control ni en subordinados (Wilcoxon; $T=65$; $p=0.586$; $n=17$) ni en dominantes (Wilcoxon; $T=62$; $p=0.492$; $n=17$).

Cuando se comparó el cambio entre la línea base y la respuesta tardía en la tasa de solicitud por hora de observación entre el grupo experimental y control en crías subordinadas, no se encontró diferencia (Wilcoxon; $T=56$; $p=0.331$; $n=17$). Entre el grupo experimental y control en las crías dominantes, dicho cambio tampoco fue diferente (Wilcoxon; $T=62$; $p=0.492$; $n=17$). Estos cambios durante la respuesta tardía tampoco difirieron cuando se analizaron los datos por hora de actividad ni en las crías subordinadas (Wilcoxon; $T=63$; $p=0.522$; $n=17$) ni en las dominantes (Wilcoxon; $T=62$; $p=0.492$; $n=17$).

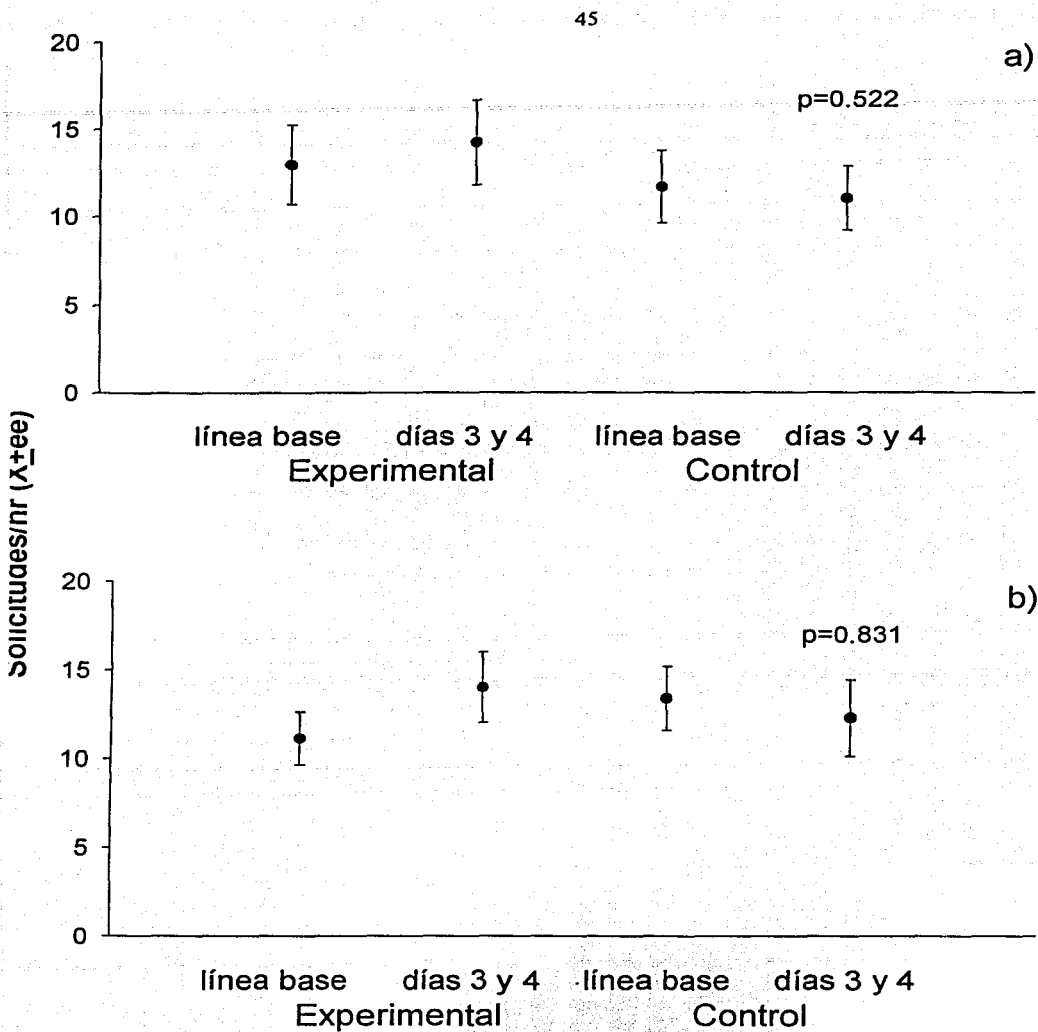


Fig. 6 Solicitud por hora de observación en las crías a) subordinadas y b) dominantes durante la respuesta temprana (n=17 crías en cada grupo).

d) Alimentación

Frecuencia de alimentación. El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de alimentación por hora de observación de las crías subordinadas no fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=30$; $p=0.789$; $n=17$) (Fig. 7); aunque sí se observó una tendencia en las crías subordinadas del grupo experimental de ser más alimentadas que el grupo control. El grupo experimental presentó un aumento en la media de la tasa de alimentación del 152%, mientras que dicho aumento en el grupo control fue únicamente del 10% (Fig. 7).

El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de alimentación por hora de observación de las crías dominantes fue diferente entre el grupo control y el experimental (Wilcoxon; $T=5$; $p=0.007$; $n=17$) (Fig.7). Las crías dominantes de nidadas experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación del 56%, mientras que las crías dominantes del grupo control presentaron una disminución del 42% (Fig. 7). Los cambios en la alimentación cuando se analizaron los datos por hora de actividad fueron semejantes a los encontrados por hora de observación, el cambio entre grupos no fue diferente en subordinados (Wilcoxon; $T=31$; $p=0.858$; $n=17$), pero sí se encontró diferencia en dominantes (Wilcoxon; $T=9$; $p=0.018$; $n=17$). Los dominantes experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación por hora de actividad del 29%, mientras que los dominantes control presentaron una disminución del 45%.

Cuando se comparó la línea base con la respuesta tardía, no se encontró diferencia entre el grupo experimental y el grupo control en la tasa de alimentación por hora de observación en las crías subordinadas (Wilcoxon; $T=27$; $p=0.593$; $n=17$) (Fig. 8). Al comparar el cambio entre la línea base y la respuesta tardía en crías dominantes, sí se encontró diferencia (Wilcoxon; $T=11.5$; $p=0.030$; $n=17$) (Fig. 8). Las crías dominantes de nidadas experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación del 17%, mientras que las crías dominantes del grupo control

presentaron una disminución del 57% (Fig. 8). Analizando los datos por hora de actividad, los cambios en la alimentación entre subordinados del grupo control y experimental no fueron diferentes (Wilcoxon; $T=25$; $p=0.476$; $n=17$), y tampoco difirieron en los dominantes (Wilcoxon; $T=16$; $p=0.071$; $n=17$). Los dominantes experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación del 15%, mientras que los dominantes control la disminuyeron un 49%.

Alimentación por nidada. El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de alimentación por nidada fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=15$; $p=0.033$; $n=17$) (Fig. 9). Las nidadas experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación del 93%, mientras que las nidadas control presentaron una disminución del 39% (Fig. 9). Cuando se analizó la frecuencia de alimentación por nidada por hora de actividad de cada pollo, el cambio entre nidadas experimentales y controles no fue diferente (Wilcoxon; $T=18$; $p=0.086$; $n=17$), aunque sí se observó un aumento en la media de alimentación en las nidadas experimentales del 87%, mientras que las nidadas control disminuyeron un 33%.

Ninguno de los grupos difirió en el cambio entre la línea base y la respuesta tardía en la tasa de alimentación por nidada (Wilcoxon; $T=20$; $p=0.136$; $n=17$); aunque el patrón se mantuvo similar al observado en la respuesta temprana: las nidadas experimentales presentaron un aumento en la media de la tasa de alimentación del 30.6% y las nidadas controles presentaron una disminución del 46% (Fig. 9). El cambio en la tasa de alimentación por nidada por hora de actividad no fue diferente entre el grupo experimental y el control (Wilcoxon; $T=37$; $p=0.330$; $n=17$), aunque el patrón observado durante la respuesta temprana se mantuvo y las nidadas experimentales aumentaron 27% la media en la tasa de alimentación, mientras las nidadas control disminuyeron 42%.

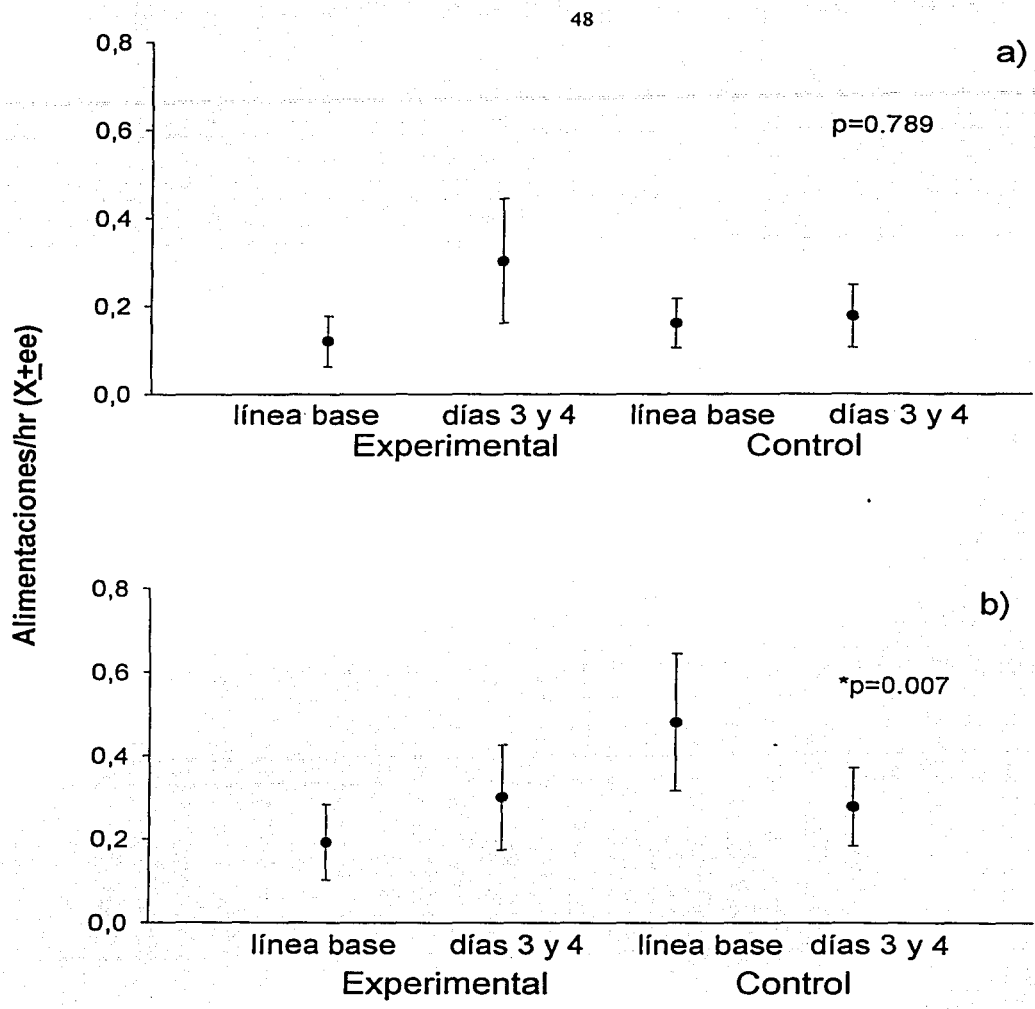


Fig. 7 Alimentaciones por hora de observación en las crías a) subordinadas y b) dominantes durante la respuesta temprana (n=17 crías en cada grupo).

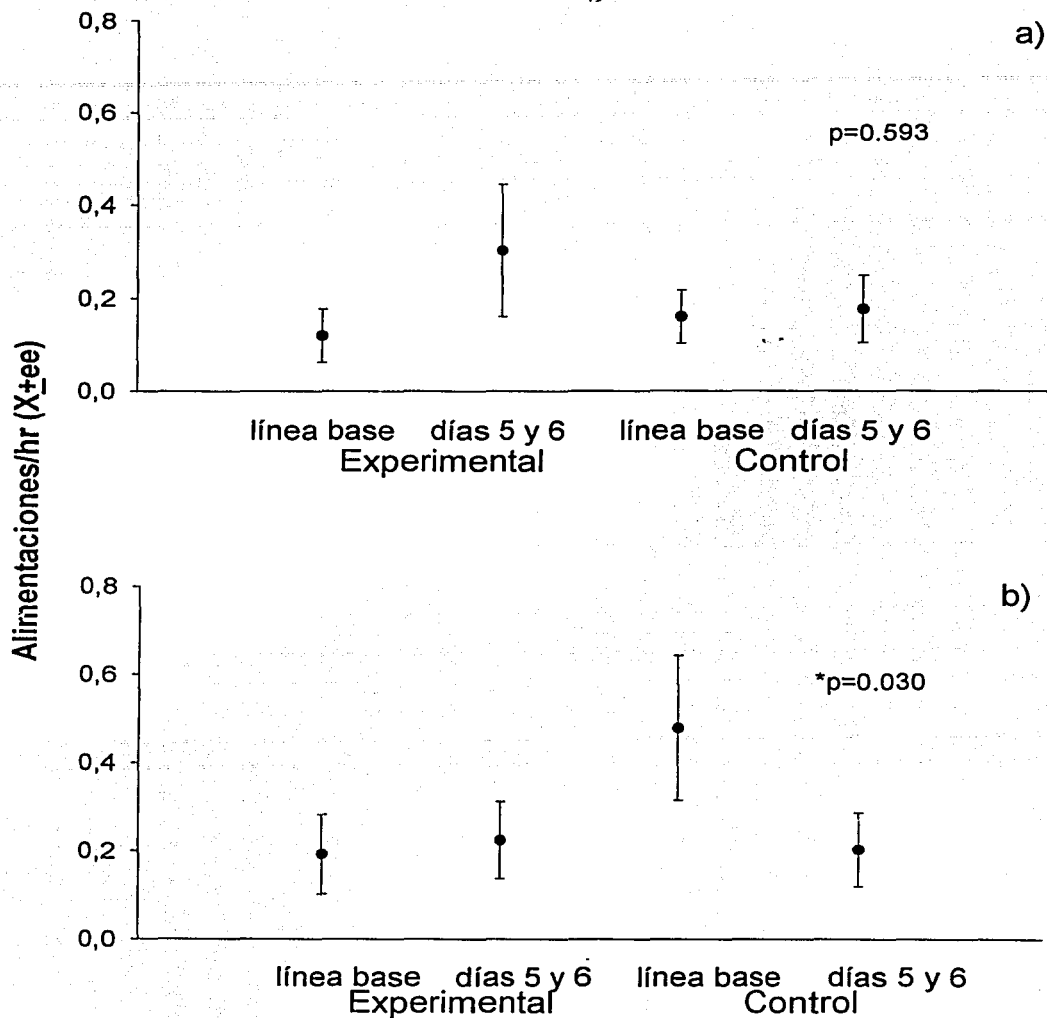


Fig. 8 Alimentaciones por hora de observación en las crías a) subordinadas y b) dominantes durante la respuesta tardía (n=17 crías en cada grupo).

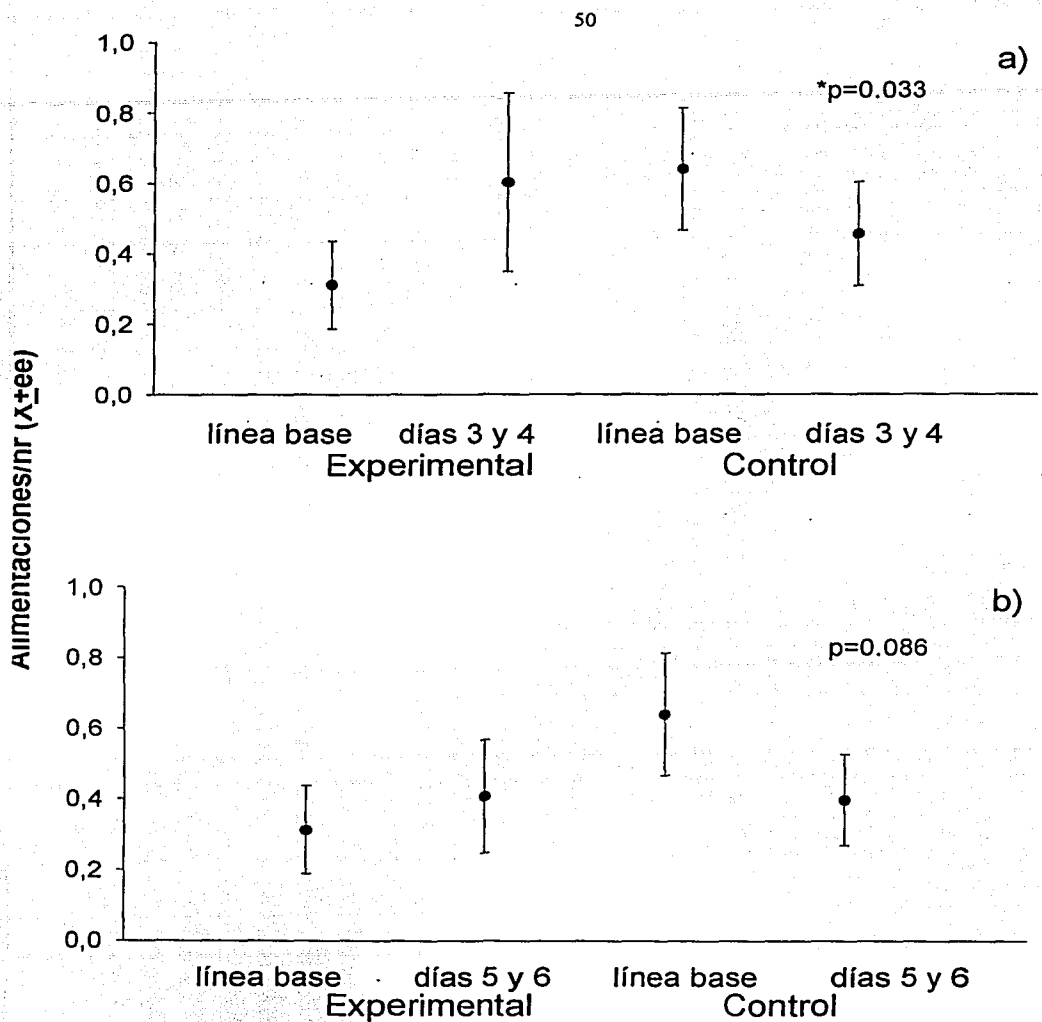


Fig. 9 Alimentaciones por hora por nidada durante a) la respuesta temprana y b) la respuesta tardía (n=17 nidadas por grupo).

e) Agresión

El cambio entre la línea base y la respuesta temprana en la tasa de agresión por hora de observación en las crías subordinadas no fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=55$; $p=0.776$; $n=17$) (Fig. 11). Presentaron la tendencia de ser menos agresivas que el grupo control: las experimentales presentaron una disminución en la media del 6%, mientras que las control presentaron un aumento del 62% (Fig. 10). Dicho cambio tampoco difirió en las crías dominantes (Wilcoxon; $T=70$; $p=0.758$; $n=17$) (Fig. 10), pero éstas también presentaron la tendencia de ser más agresivas que el grupo control. El grupo experimental presentó un aumento del 64% en la media de agresión, mientras que el grupo control presentó un aumento de únicamente el 16% (Fig. 10). El cambio en la agresión por hora de tiempo activos al mismo tiempo, tampoco difirió entre grupos experimental y control en subordinadas (Wilcoxon; $T=41$; $p=0.280$; $n=17$) ó en dominantes (Wilcoxon; $T=72$; $p=0.831$; $n=17$). El patrón fue similar al encontrado por hora de observación: los dominantes experimentales presentaron un aumento en la media del 42%, y los controles presentaron un aumento del 21%. Las crías subordinadas experimentales presentaron una disminución en la media del 36%, mientras que en las control se observó un aumento del 21%.

Cuando se comparó el cambio entre línea base y respuesta tardía en la tasa de agresión por hora de observación entre el grupo experimental y el grupo control en crías subordinadas, no se encontró cambio (Wilcoxon; $T=42$; $p=0.306$; $n=17$) y dicho cambio en la tasa de agresión tampoco difirió en las crías dominantes (Wilcoxon; $T=56$; $p=0.331$; $n=17$). Analizando los datos por hora de actividad de ambos pollos al mismo tiempo, el cambio tampoco difirió entre grupos experimental y control en subordinados (Wilcoxon; $T=40$; $p=0.255$; $n=17$) ó en dominantes (Wilcoxon; $T=54$; $p=0.286$; $n=17$).

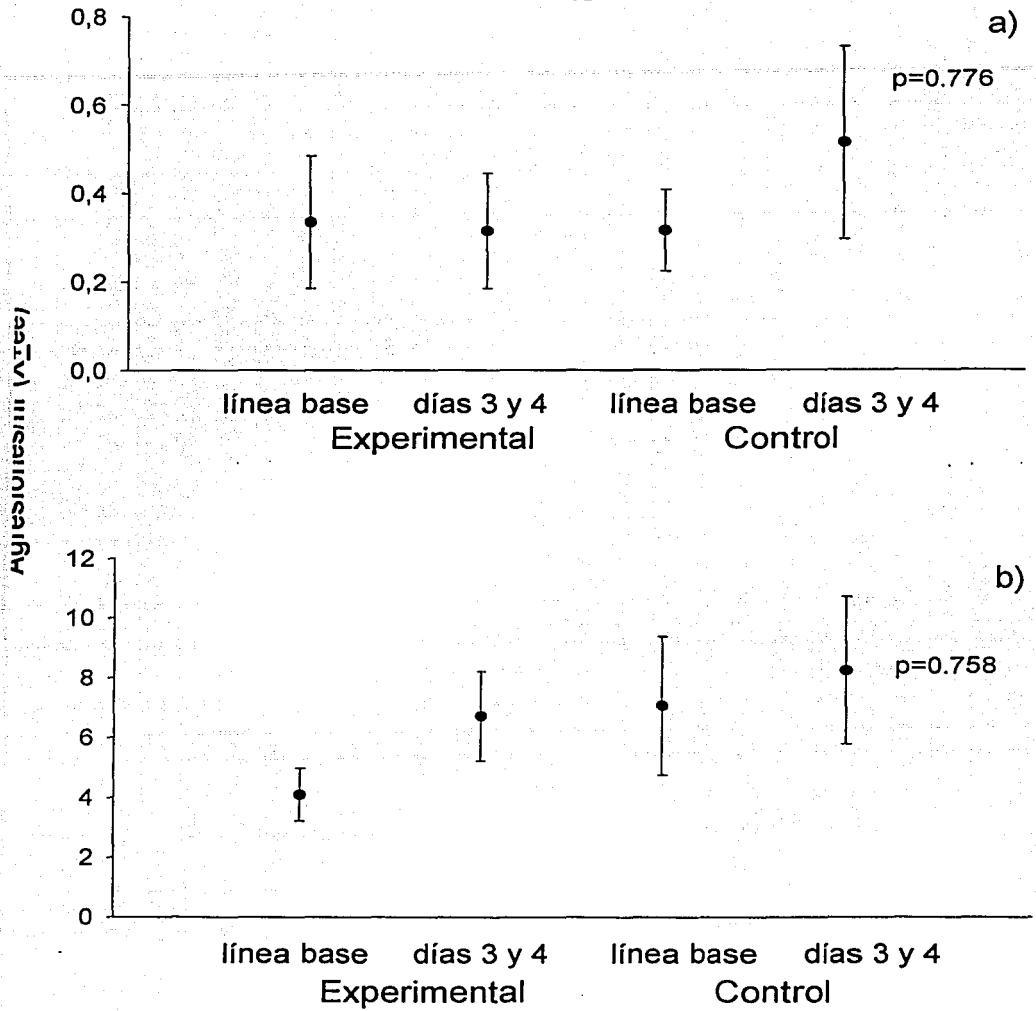


Fig. 10 Agresiones por hora de observación en las crías a) subordinadas y b) dominantes (n= 17 crías en cada grupo).

2. Fisiología

a) Corticosterona.

Los niveles basales circulantes de corticosterona en las crías subordinadas del grupo experimental en el día 2 ($X=31.6$ ng/ml; $ee= 5.01$; $n=17$) fueron semejantes a los niveles circulantes en el grupo control en el mismo día ($X=25.8$ ng/ml; $ee=6.2$; $n=17$) (t-test; $t = 0.728$; $p = 0.472$) (Fig.11). El cambio entre el día uno y el día seis en los niveles circulantes de corticosterona, no fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control (Wilcoxon; $T=47$; $p=0.162$; $n=17$) (Fig.11).

b) Proteínas de unión de la corticosterona (CBG)

La capacidad de CBG en las crías subordinadas del grupo experimental al sexto día del experimento ($X=63.3$ nM/l; $ee=13.7$; $n=7$) al sexto día del experimento fue semejante a la capacidad de CBG en las crías subordinadas del grupo control en el mismo día ($X=57.8$; $ee=3.2$; $n=7$) (t- test; $t= 0.89$, $p= 0.390$).

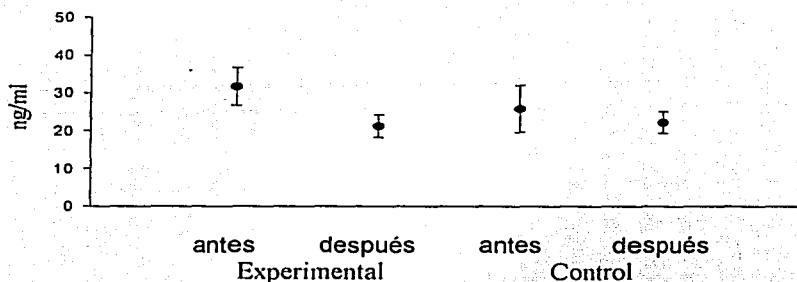


Fig. 11 Niveles circulantes de corticosterona antes y después de la aplicación del implante en ambos grupos ($n=17$ en cada grupo). $p=0.472$

3. Crecimiento

a) Peso

El cambio de peso entre el primero y el sexto día del experimento en subordinados con corticosterona ($X= 301.7\text{gr}$; $ee=20.9$; $n=17$) y subordinados sin corticosterona ($X= 314.7\text{gr}$; $ee=26.2$; $n=17$) no fue significativamente distinto (t-test; $t=-0.38$; $p=0.701$). Dicho cambio de peso en dominantes de nidadas con corticosterona ($X =507.6 \text{ gr}$; $ee=40.5$; $n=17$) y en dominantes del grupo control ($X=523.8 \text{ gr}$; $ee=26.5$; $n=17$) tampoco fue significativamente diferente (t-test; $t=-0.33$; $p=0.740$).

b) Pico

El cambio de longitud de pico entre el primero y el sexto día del experimento en subordinados con corticosterona ($X= 44.2 \text{ mm}$; $ee=1.5$; $n=17$) y subordinados sin corticosterona ($X= 44.5 \text{ mm}$; $ee=1.2$; $n=17$) no fue significativamente distinto (t-test $t =-0.11$; $p=0.908$). Dicho cambio de pico en dominantes de nidos con corticosterona ($X= 56.6 \text{ mm}$; $ee= 1.7$; $n=17$) y en dominantes del grupo sin corticosterona ($X=57.4 \text{ mm}$; $ee=1.5$; $n=17$) tampoco fue significativamente diferente (t-test; $t =-0.34$; $p=0.733$).

4. Resumen resultados

a) *Conducta*

i Tasa por hora de observación

Respuesta temprana

Se encontraron varias diferencias significativas con la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas entre crías experimentales y control en el cambio de conducta entre la línea base y los días 3 y 4. Hubo un aumento mayor en la tasa de sumisiones espontáneas de las crías subordinadas del grupo experimental que en las del grupo control (127% vs 16%). Las crías dominantes experimentales presentaron un aumento mayor que las dominantes control en la proporción de tiempo activas (20% vs -4%), y en la tasa de alimentación (56% vs -42%). Las nidadas experimentales aumentaron la tasa de alimentación más que las nidadas del grupo control (93% vs -39%), así como la proporción de tiempo activos ambos pollos al mismo tiempo (35% vs -8%).

También se encontraron diferencias no significativas: las crías subordinadas experimentales aumentaron más que el grupo control las tasas de alimentación (152% vs 10%) y disminuyeron en relación al grupo control la tasa de agresión (-6% vs 62%), y las crías dominantes experimentales aumentaron más que el grupo control la frecuencia de agresión (64% vs 16%) y la solicitud (26% vs -8%).

Las crías subordinadas del grupo experimental presentaron respuestas parecidas al grupo control en la tasa de solicitud (8% vs -6%) y en las proporciones de tiempo activas (17% vs 5%) y de sumisiones en respuesta a una agresión (29% vs 12%).

Respuesta tardía

Se encontraron dos diferencias significativas: la proporción del tiempo activo y la frecuencia de alimentación de las crías dominantes del grupo experimental presentaron un aumento mayor que el grupo control (56% vs -45%) y (17% vs -57%) respectivamente. En las crías subordinadas, ambos grupos presentaron un cambio similar entre la línea base y la respuesta tardía en la proporción de sumisiones espontáneas. En el resto de las conductas, el patrón de cambio entre la línea base y la respuesta tardía fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control. Dicho patrón fue similar al observado entre la línea base y la respuesta temprana. Las diferencias no fueron significativas.

ii Tasa por hora activos

Respuesta temprana

Cuando se analizaron los datos utilizando la frecuencia de las variables por hora activos ambos pollos al mismo tiempo activos, no se encontró diferencia significativa entre grupos en ninguna variable, aunque en la conducta agonística, el patrón de cambio se asemeja al encontrado cuando se utilizó la tasa por hora de observación. Las crías subordinadas experimentales aumentaron la sumisión espontánea más que las subordinadas del grupo control (83% vs 32%), las crías dominantes del grupo experimental aumentaron la frecuencia de agresión más que las dominantes control (42% vs 21%) y la agresión de las crías subordinadas experimentales disminuyó en relación a las crías control (-36% vs 21%).

Las variables relacionadas a la alimentación presentaron un patrón de cambio diferente cuando se analizó por hora activos ambos pollos al mismo tiempo. Nuevamente, las diferencias entre grupos no fueron significativas. Las subordinadas experimentales disminuyeron la tasa de alimentación de una forma similar que las crías del grupo control (41% vs 32%). La tasa de solicitud

en las subordinadas del grupo experimental disminuyó más que en el grupo control (29% vs 6%). Las crías dominantes experimentales y controles disminuyeron la tasa de alimentación de forma similar: 41% y 34% respectivamente. Las dominantes de los grupos experimental y control también disminuyeron de forma similar sus tasas de solicitud (-3% vs 7%) y alimentación (6% vs 12%).

Respuesta tardía

Durante la respuesta tardía se encontró el mismo patrón que el observado durante la respuesta temprana en todas las variables y nuevamente, ninguna diferencia entre grupos fue significativa.

b) Fisiología y crecimiento

El cambio entre el día uno y el día seis en los niveles circulantes de corticosterona, no fue diferente entre el grupo experimental y el grupo control. Los niveles encontrados en ambos días fueron similares. La capacidad de las proteínas de unión de corticosterona en el día seis, fue similar en el grupo experimental y el grupo control. El crecimiento de crías subordinadas y dominantes también fue similar en ambos grupos.

V. DISCUSIÓN

1. Fisiología

Los niveles de corticosterona encontrados en las crías subordinadas de 12 – 14 días de edad (29 ± 3 ng/ml) antes del implante de corticosterona, fueron aproximadamente el doble que los valores basales encontrados por Núñez de la Mora et al. (1996) en crías del mismo estatus de entre 15 y 20 días de edad (15 ± 4.7 ng/ml), pero fueron similares a los niveles basales encontrados por Ramos Fernández (1993) en crías del mismo estatus de entre 10 y 20 días de edad (33 ± 4 ng/ml). Los niveles pueden variar entre años por varios factores: perturbación de la colonia durante el cortejo ó la puesta, cantidad y/o calidad del alimento traído por los padres, por algún depredador ó por mal tiempo antes, durante ó después de la puesta. Lo más probable es que las condiciones de recursos y climáticas durante esta temporada (2002) hayan sido similares a las condiciones en las que Ramos - Fernández hizo su estudio (1991) y diferentes a las que tuvo Núñez de la Mora (1993) durante el suyo (41,42).

No se encontraron diferencias entre los valores de corticosterona en los bobos subordinados experimentales ni controles de este estudio antes (día 2) y después (día 6) del implante. Se han implantado con cápsulas silásticas llenas de corticosterona a gorriones (*Zonotrichia spp*) (20),¹ juncos (*Junco hyemalis*) (34), gaviotas de patas negras (*Rissa tridactyla*) (31), codornices (*Coturnix coturnix*)², chichicuilete gordo (*Clidris canutus*) (31) y gallinas (16). En todos, excepto en gallinas, se ha observado un aumento en los niveles circulantes de corticosterona. En el junco y el chichicuilete gordo los niveles de corticosterona llegaron a valores máximos 24 horas después del implante y disminuyeron a valores basales 72

¹ Landys, M. 2002. Comunicación personal.

² Hayward, K. 2002. Comunicación personal.

horas después del mismo. En crías de gaviotas de patas negras, los valores encontrados fueron casi 100% mayores que los valores basales tres días después de implantar con corticosterona (31). Las gallinas encapsularon el implante impidiendo así la liberación de la hormona, pero esto no se ha observado en ninguna otra especie. Probablemente los niveles de corticosterona en bobos se elevaron durante las primeras 48 horas después del implante, ya que la mayoría de los cambios conductuales en el grupo experimental entre la línea base y el período de tratamiento, se encontraron durante la respuesta temprana (días 3 y 4). Haber encontrado cambios en la conducta del grupo experimental durante los dos primeros días después del implante, nos indica que probablemente la corticosterona ejerció un efecto durante este período. Durante la respuesta tardía, sólo se mantuvieron algunas de estas diferencias y los cambios fueron de menor magnitud que durante la respuesta temprana.

La capacidad de proteínas de unión de corticosterona no fue diferente entre grupos control y experimental después del implante. Los bobos del grupo experimental no disminuyeron la capacidad de proteínas de unión como un método para evitar que la corticosterona (suponiendo que aumentó durante las 48hrs post implante) entrara a las células. La fisiología de las proteínas de unión de corticosterona en aves no ha sido muy bien estudiada, pero se ha observado que algunas especies tienen la capacidad de regular la capacidad de las mismas para permitir o impedir la entrada de corticosterona a los órganos blanco ^{3,1}. Aumentar la capacidad de las proteínas transportadoras, sirve para que se una más hormona a estas proteínas y así entre más corticosterona a las células. Disminuyendo la capacidad sucede lo contrario, la hormona no tiene cómo transportarse, por lo tanto no puede entrar a las células y llega rápidamente al hígado, en donde se degrada (1).

³ Raouf, S. 2002. Comunicación personal

No haber encontrado diferencias entre el grupo control y experimental después del implante en la capacidad de las proteínas de unión de corticosterona, puede estar indicando que los pollos de bobo no tienen la capacidad de regular estas proteínas, o que tal vez las modificaron únicamente durante el período de tiempo en el que posiblemente estuvieron aumentados los niveles de corticosterona (días 3 y 4). Puesto que los niveles de corticosterona posiblemente sólo estuvieron aumentados durante 48 horas, tal vez no fue necesario disminuir la capacidad de las proteínas para evitar los efectos detrimentales de los niveles elevados de corticosterona. Se desconoce si el organismo puede cambiar la capacidad de estas proteínas en respuesta a cambios hormonales agudos o si la modificación constituye una adaptación a largo plazo para evitar los efectos crónicos de la corticosterona (39). En aves no se ha encontrado una proteína transportadora de andrógenos; éstos son transportados en las proteínas de unión de corticosterona y existe competencia de ambas hormonas por dicha proteína. Este es el primer registro de la presencia de proteínas de unión de corticosterona en bobos. Ramos Fernández (1993) y Núñez de la Mora et al.(1996) no encontraron ni testosterona ni dihidrotestosterona en crías de bobo. Tal vez los altos niveles de corticosterona estén inhibiendo la unión de andrógenos a las proteínas transportadoras y aunque éstos se estén liberando, no puedan alcanzar niveles detectables y tampoco puedan ejercer un efecto.

2. Conducta

El patrón de los cambios conductuales es difícil de interpretar, por lo que a continuación ofrezco interpretaciones especulativas, tomando en cuenta inclusive los cambios conductuales que no fueron significativos. Para fines de esta discusión, supondré que las cápsulas de corticosterona efectivamente elevaron los niveles circulantes de corticosterona durante los días 3 y 4.

a) Respuesta temprana

i Tasa por hora de observación

Subordinados

Estímulos como la cercanía del ala o el pico del adulto, o la presencia en el campo visual de la cría hermana, provocaron en los subordinados del grupo experimental, la ocurrencia de sumisiones espontáneas. Si la corticosterona aumentó 24 horas después del implante y durante 24 horas más, los altos niveles pudieron haber provocado que las crías subordinadas experimentales fueran más sensibles y presentaran esta conducta con mayor frecuencia, ya que estímulos que normalmente no provocarían ningún cambio en la conducta, ocasionaron sumisión. La proporción de agresiones respondidas con sumisión no cambió en subordinados experimentales, aunque la agresión hacia las crías dominantes disminuyó de manera no significativa en este grupo, con relación al grupo control. La tasa de solicitud no cambió en las subordinadas experimentales, pero sí se observó una tendencia no significativa de recibir más alimentaciones. Tal vez cambió algún componente de la solicitud que nuestro sistema de registro no pudo medir, como la intensidad con la que los pollos solicitaban, y como consecuencia aumentó la frecuencia de alimentación.

Funcionalmente, el aumento en los niveles de corticosterona significa para el organismo un estado de emergencia fisiológica. Los altos niveles de corticosterona se presentan cuando existe una amenaza para la sobrevivencia. Esta amenaza puede ser una disminución en la cantidad o la calidad de alimento. Si las crías subordinadas se encuentran con hambre, posiblemente sus hermanos también lo estén, y un hermano hambriento es un hermano que puede atacar y matar si el hambre persiste (3). El significado funcional de aumentar la frecuencia de sumisiones espontáneas podría ser evitar ser atacado, aunque parece que en este caso no consiguió tal resultado, porque los

dominantes experimentales presentaron una tendencia no significativa de ser más agresivos que los dominantes control.

Alternativamente, las sumisiones espontáneas podrían ser un indicador de la condición y el hambre de los subordinados. Así, si los subordinados aumentaron la tasa de sumisiones espontáneas, los adultos recibieron la señal de que los pollos estaban hambrientos y bajo una condición de emergencia fisiológica. El aumento no significativo en la frecuencia de alimentación, en ausencia de un incremento en la frecuencia de solicitud es consistente con esta interpretación. Las únicas crías en las que se han estudiado los efectos de altos niveles de corticosterona han sido las gaviotas de patas negras y rojas. En éstas se encontró un aumento en la frecuencia de solicitud y en la frecuencia de alimentación por parte de los padres (31,35,50). No se observó un aumento en la agresión de ninguno de los integrantes de la nidada en gaviotas de patas negras. Cuando se manipularon las kilocalorías ingeridas en gaviotas de patas rojas, los individuos que ingerían menor cantidad de energía pero la misma cantidad de alimento, presentaron un aumento significativo en los niveles circulantes de corticosterona y un aumento en la frecuencia de solicitud (31). Junto con el trabajo de Núñez de la Mora et al.1993, estos ejemplos nos indican que la disminución en la cantidad y/o calidad del alimento, aumenta los niveles circulantes de corticosterona y que este aumento provoca cambios conductuales para contrarrestar el hambre. El aumento en sumisiones espontáneas como consecuencia de un aumento de corticosterona, podría servir para inducir mayor oferta de alimento por parte de los padres.

Si en los subordinados experimentales lo que cambió fue la intensidad de la solicitud y no la frecuencia, este cambio pudo haber sido para seguir recibiendo alimento con más frecuencia sin exponerse durante más tiempo a las agresiones de los dominantes. Cuando se les restringió el alimento a ambos miembros de la nidada de bobo de patas azules, tanto dominantes como subordinados presentaron un aumento significativo en la frecuencia de solicitud (3), pero es

concebible que dicho aumento en frecuencia se debió precisamente a la competencia aguda de dos polluelos simultáneamente hambrientos.

Tal vez los altos niveles de corticosterona en bobos provocaron un cambio en alguna conducta que no se registró y este cambio ocasionó el resto de los cambios conductuales que encontramos. Sería demasiado simplista creer que porque no se registraron, no se presentaron cambios en otras conductas debido al aumento de corticosterona. Los observadores no sabían si observaban nidos experimentales o controles, por lo que difícilmente detectarían cambios en conductas de nidadas experimentales no incluidas en los registros.

Dominantes

Los pollos dominantes del grupo experimental aumentaron la proporción de tiempo activos posiblemente porque notaron un cambio en la conducta de las crías subordinadas, de los adultos o de ambos. Por ejemplo, el aumento de sumisiones espontáneas de los subordinados ó el aumento en la frecuencia de alimentación por parte de los adultos, pudieron haber sido los estímulos. Los dominantes del grupo experimental fueron alimentados con mayor frecuencia que los controles, tal vez en respuesta a un aumento no significativo en su solicitud, o en respuesta a los cambios en subordinados (aumento de sumisiones espontáneas ó al posible cambio en la intensidad de la solicitud). También se observó una tendencia no significativa de ser más agresivos que los dominantes del grupo control, lo cual podría ser una respuesta al aumento no significativo en la tasa de alimentación de las crías subordinadas.

El aumento de actividad del dominante podría servir para asegurar la prioridad en la alimentación ó para pueden percatarse de otros cambios en la conducta del subordinado ó de los

adultos. Por otro lado, los dominantes pudieron haber aumentado la emisión de agresiones de manera no significativa para obtener mayor prioridad de acceso al alimento.

Adultos

Probablemente los adultos aumentaron la tasa de alimentación en respuesta al aumento en la sumisión espontánea de los pollos subordinados (si funcionara como señal de emergencia fisiológica o indicador de condición) y al aumento no significativo en la agresión de los dominantes. Si dichos cambios en sumisión y agresión indican que las crías tienen hambre aguda en una situación no experimental, podría ser apropiado aumentar la oferta de alimento. Como se mencionó anteriormente, no podemos descartar que haya ocurrido un cambio en la intensidad de la solicitud de los pollos subordinados y que este cambio haya provocado el aumento en la tasa de alimentación por parte de los adultos. Probablemente los adultos no alimentaron con más cantidad a las nidadas experimentales, sino únicamente con mayor frecuencia, ya que el crecimiento de los pollos experimentales y controles fue similar. Posiblemente los adultos "sabían" que estaban alimentando correctamente, pero las señales que recibían de los pollos eran opuestas. Alimentar con mayor frecuencia sin aumentar la cantidad puede ser un método para "calmar" a los pollos y defenderse de un posible engaño. Kitaysky (com. personal) restringió la alimentación en crías de gaviotas de patas negras con cintas en el cuello y las crías aumentaron la solicitud al doble de lo normal, pero cuando les colocó un pellet de plástico en el pico, las crías se tranquilizaron y dejaron de solicitar.

Si las sumisiones espontáneas funcionan como un indicador de condición en subordinados y los adultos responden a este indicador, entonces los subordinados podrían emitir más sumisiones espontáneas para provocar más alimentación parental. Sin embargo, si aumentar la tendencia de ser más sumisos de esta manera implica secretar más corticosterona, sufrirían los efectos detrimentales

de los altos niveles de corticosterona de forma crónica. Además, el aumento de sumisiones espontáneas en este experimento provocó que los padres únicamente aumentaran la frecuencia con la que alimentaron pero no la cantidad de alimento. No es probable que los adultos estuvieran alimentando a su máxima capacidad y que únicamente pudieran aumentar la frecuencia y no la cantidad, ya que Osorno y Drummond (1995) encontraron que los adultos tuvieron la capacidad de aumentar la cantidad de alimento cuando se igualó la edad de los pollos en la nidada artificialmente (51).

ii Tasa por hora activos ambos pollos al mismo tiempo y por hora de actividad

Cuando se analizaron los datos utilizando la tasa por hora activos ambos pollos al mismo tiempo o por hora de actividad de cada pollo, encontró diferencia significativa únicamente en los cambios de alimentación de los pollos dominantes. Los dominantes del grupo experimental fueron alimentados con mayor frecuencia que los dominantes del grupo control. Aunque las diferencias entre los cambios no fueron significativas en el resto de las conductas, el patrón de cambio fue similar al encontrado cuando se analizaron los datos por hora de observación. Parece que sí hubo un aumento real en la responsividad del grupo experimental. El aumento en la tasa de ocurrencia de las conductas registradas, no fue únicamente la consecuencia del aumento en la actividad de los pollos dominantes.

b) Respuesta tardía

Durante la respuesta tardía se encontró una diferencia significativa en la proporción del tiempo activo y un aumento en la tasa de alimentación de las crías dominantes. Las dominantes experimentales aumentaron más que las control la proporción de tiempo activos y la tasa de alimentación. Las magnitudes de estos aumentos fueron menores que las magnitudes encontradas durante la

respuesta temprana. El patrón de cambio en el resto de las conductas tanto en subordinados como en adultos fue similar al encontrado durante la respuesta temprana pero las diferencias no fueron significativas. En crías dominantes experimentales tanto el aumento significativo en actividad y alimentación como el aumento no significativo en la agresión, estuvieron regulados por el cambio en la conducta de los otros integrantes de la nidada. La tasa de sumisiones espontáneas de las crías subordinadas experimentales aumentaron durante la respuesta temprana y disminuyeron durante la respuesta tardía, posiblemente de forma similar a los niveles de corticosterona, lo cual podría estar indicando que la corticosterona ejerció un efecto directo en el aumento de sumisiones espontáneas.

Cuando analizamos los datos utilizando la tasa por hora activos ambos pollos al mismo tiempo para la conducta agonística y la tasa por hora de actividad para la conducta alimenticia, los resultados durante la respuesta tardía fueron similares a los encontrados cuando se analizaron utilizando la tasa por hora de observación, aunque en este caso ninguna diferencia fue significativa. Nuevamente, esto nos indica que la diferencia entre grupos durante la respuesta tardía fue real y no únicamente la consecuencia del aumento en la actividad del dominante y el consiguiente aumento en la proporción de coincidencia activos.

VI CONCLUSIONES

1. El papel de la corticosterona en las relaciones agonísticas de pollos de bobo de patas azules

Haber encontrado que altos niveles de corticosterona en los pollos subordinados tienen un efecto en la ocurrencia de sumisiones espontáneas, nos permite concluir que la corticosterona ejerce un efecto en la s de crías subordinadas de bobo de patas azules. El aumento en la tasa de sumisiones espontáneas por hora de observación, implica que la corticosterona puede tener efectos conductuales de una posible importancia adaptativa. Por ejemplo, no podemos descartar que el cambio en la tendencia de ser más sumisos consigue beneficios para las segundas crías de dos posibles maneras: provocando mayor frecuencia de alimentación por parte de los padres, ó inhibiendo la agresión del dominante. Es posible que la agresión de los subordinados experimentales no haya aumentado como en los control, por un efecto directo de la corticosterona en la agresión y esto podría conseguir la disminución en la agresión del dominante, aunque no hubo evidencias de que esto ocurrió.

En vista del efecto de la corticosterona sobre sumisiones espontáneas, es sorprendente que los altos niveles artificiales de corticosterona en subordinados no facilitaran la conducta sumisa en respuesta a una agresión. Posiblemente las sumisiones en respuesta a una agresión no aumentaron porque no funcionan como un indicador de hambre o estrés. Aumentar la tasa de sumisiones en respuesta a una agresión tal vez no tenga ningún beneficio. Si existe una relación de dominancia subordinación establecida en la nidada y un umbral en el que los dominantes "entienden" la sumisión en respuesta a una agresión, aumentar la frecuencia podría no servir para evitar ser atacados. Si desde los 10 primeros días de nacidos los subordinados tienen altos niveles de corticosterona, (43) y se comportan de una forma sumisa, posiblemente un aumento artificial en los niveles circulantes

de esta hormona no provoca un aumento en la tasa de sumisiones en respuesta a una agresión si funcionalmente no va a tener ningún beneficio.

Este trabajo demostró que la familia es un sistema complejo en el que la conducta de cada una de las partes que la componen (adultos, dominantes y subordinados) puede ser influida por los demás. Los cambios fisiológicos que modificaron la conducta en un integrante de la nidada, provocaron cambios conductuales en el resto de la misma. No se puede descartar que el aumento en los niveles circulantes de corticosterona en subordinados no únicamente esté provocando cambios conductuales en el resto de la nidada, sino también cambios fisiológicos. Por ejemplo, es concebible que los adultos necesiten aumentar sus propios niveles de corticosterona para poder incrementar la frecuencia con la que alimentan a los pollos. Adultos de gaviota de patas negras implantados con corticosterona alimentaron con mayor frecuencia a sus crías, las cuales no habían sido manipuladas (31).

Los resultados del presente estudio sugieren que el aumento en la frecuencia de solicitud no es la única conducta en la que influye la corticosterona para aumentar la frecuencia de alimentación. No existe evidencia en otros estudios de que en pollos o en aves adultas, altos niveles de corticosterona cambien alguna otra conducta que sea capaz de provocar un aumento en la frecuencia de alimentaciones (además de la frecuencia de solicitud en crías y tasa de forrajeo en adultos). Posiblemente existen indicadores conductuales de condición y hambre en pollos, que van más allá de la frecuencia de solicitud, como podrían ser las sumisiones espontáneas o la intensidad de la solicitud.

2. Planes futuros

Para constatar que verdaderamente los niveles de corticosterona se elevaron como consecuencia de las cápsulas, debemos implantar a pollos subordinados de 12 días de edad y sangrar 24 horas después y medir los niveles circulantes de corticosterona.

Además, para saber si existió algún cambio en la solicitud de los pollos con corticosterona, se debería utilizar un sistema de registro que permita cuantificar la intensidad de la solicitud. Esto podría hacerse, por ejemplo, con una escala numérica. Estableciendo un número para cada "grado" de solicitud, comenzando con el uno para la intensidad más baja, podríamos saber si el cambio en la intensidad después del tratamiento es diferente entre el grupo experimental y el grupo control.

Por otro lado, sería sumamente interesante implantar con corticosterona a individuos dominantes de nidadas de dos y comparar si existen diferencias conductuales entre individuos con corticosterona y sin ésta y conocer qué clase de diferencias son, ya que tal vez la corticosterona pueda ejercer diferentes cambios conductuales según la experiencia del individuo. Adicionalmente, habría que implantar con corticosterona a crías sin experiencia y una vez implantadas colocarlas con individuos de la misma edad sin experiencia para saber si la corticosterona favorece la presencia de conductas sumisas o agresivas.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

VII LITERATURA CITADA

1. Archer J. The Behavioural Biology of Aggression. Cambridge: U.P. Cambridge, 1988.
2. Brain P.F., Benton D., editors. Multidisciplinary Approaches to Aggression Research. Netherlands: Elsevier North Holland Biomedical Press, 1981.
3. Drummond H., García – Chavelas C. Food shortage influences sibling aggression in the blue – footed booby. *Animal Behavior* 1989; 37, 806-819.
4. Mock D. Sibicidal aggression and resource monopolization in birds. *Science*. 1984b; 225:731-733.
5. Bernstein, I. Dominance: The baby and the bathwater. *Behav. Brain Sci.* 1981; 4:419-457.
6. Drummond H. Agonism and dominance in nestling birds. In: Adams N.J., Slotow R.H., editors. Proc. 22 Int. Ornithol. Congr., Durban: 1621 – 1631, 1999. Johannesburg: Bird Life South Africa.
7. Drummond H., Rodríguez C., Vallarino A., Valderrábano C., Rogel G., Tobón E. Desperado siblings: uncontrollably aggressive junior chicks. 2001, enviado.
8. Leshner A.I. The interaction of experience and neuroendocrine factors in determining behavioral adaptations to aggression. En: P.S. McConnell, G.J. Boer, H.J. Romijn, N.E. van de Poll y M.A. Corner editors. *Adaptive Capabilities of the Nervous System, Progress in Brain Research*, Vol. 53, Elsevier North Holland, Amsterdam, 427- 438, 1980.
9. Tokarz R. Effects of corticosterone treatment on male aggressive behavior in a lizard (*Anolis sagrei*). *Hormones and Behavior* 1987; 21:358-370.
10. Nelson J. The Sulidae: Gannets and Boobies. London: Oxford University Press, 1978.
11. García, A., Saavedra, M.T. Variación interanual en el éxito reproductivo del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*) y sus implicaciones en la reducción facultativa de la nidada. Tesis de Licenciatura UNAM Facultad de Ciencias, 1997.
12. Drummond H., González E., Osorno J.L. Parent – offspring cooperation in the blue footed booby (*Sula nebouxii*): social roles in infanticidal brood reduction. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 1986; 19:365-372.
13. Drummond H., Osorno J.L. Training siblings to be submissive losers: dominance between booby nestlings. *Animal Behavior* 1992; 44:881-893.
14. Drummond H., García – Chavelas C. Food shortage influences sibling aggression in the blue – footed booby. *Animal Behavior* 1989; 37, 806-819.

15. Drummond H., Osorno J.L., Torres R., García Chavelas C., Merchant H. Sexual size dimorphism and sibling competition: implications for avian sex ratios. *American Naturalist* 1991; 138:623-641.
16. Wingfield J.C., Silverin B. Ecophysiological studies of hormone – behavior relations in birds. En: *Hormones, brain and behavior*, Vol. 2, Academic press. EUA, 2002.
17. Nelson R. *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. 2nd ed. USA: Sinauer Associates, Inc., 2000.
18. Wingfield J.C., Farner D.S. The endocrinology of wild species. En: *Avian Biology* (editado por Farner, D.S., King J.R., y Parkes K.C.) vol 9, pp.163-327, Academic Press, New York, 1993.
19. Creel S. Social dominance and stress hormones. *Trends in Ecology and Evolution* 2001; 16:491-497.
20. Astheimer L.B., Buttemer W.A., Wingfield J.C., Interactions of corticosterone with feeding, activity and metabolism in passerine birds. *Ornis Scandinava*, 1992; 23:355-365.
21. Leshner A.I., Politch J.A. Hormonal control of submissiveness in mice: irrelevance of the androgens and relevance of the pituitary – adrenal hormones. *Physiology and Behavior* 1979; 22:531-534.
22. Knapp R., Moore M.C. Male morphs in tree lizards, *Urosaurus ornatus*, have different delayed hormonal responses to aggressive encounters. *Behaviour* 1996; 52:1045-1055.
23. Greenberg, N., Chen T., Crews D. Social status, gonadal state and the adrenal stress response in the lizard *Anolis carolinensis*. *Hormones and Behavior* 1984; 18:1-11.
24. Sapolsky R., Romero, M., Munck, A. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*. 2000; 21 (1):55-89.
25. Heller, R. Role of corticosterone in the control of post – shock fighting behaviour in male laboratory mice. *Behav. Processes* 1978; 3:211-222.
26. Heller, R. An attempt to separate the roles of corticosterone and ACTH in the control of post-shock fighting behaviour in male laboratory mice. *Behav. Process* 1979; 4:231-238.
27. Brain, P., Evans, A. Acute influences of some ACTH related peptides on fighting and adrenocortical activity in male laboratory mice. *Pharm. Biochem. Behav.* 1978; 7:524-533.
28. Wingfield J.C., Ball G.F., Dufty R.E., Hegner R.E., Ramenofsky M. Testosterone and aggression in birds: test of the challenge hypothesis. *Am. Sci.* 1987; 75:602-608.
29. Wingfield J.C., Hegner R.E., Dufty A.M., Ball G.F. The "challenge hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist* 1990; 136:829-846.

30. Kitaysky A.S., Piatt J.F., Wingfield J.C., Romano M. The adrenocortical stress – response of black legged kittiwake chicks in relation to dietary restrictions. *Journal of Comparative Physiology B* 1999; 169:303-310.
31. Kitaysky A.S., Wingfield J.C. Piatt J.F. Corticosterone facilitates begging and affects resource allocation in the black – legged kittiwake. *Behavioral Ecology* 2001b; 12: 619-625.
32. Moore M. Circulating steroid hormones during rapid aggressive responses of territorial male mountain spiny lizards, *Sceloporus jarrovi*. *Hormones and Behavior* 1987; 21:511-521.
33. Ramenofsky, M. Acute changes in plasma steroids and agonistic behavior in male japanese quail. *General and comparative endocrinology* 1985; 60:116-128.
34. Gray J.M., Yarian D., Ramenofsky M. Corticosterone, Foraging Behavior and Metabolism in Dark – Eyed Juncos (*Junco hyemalis*). *General and Comparative Endocrinology*, 1990; 79:375-384.
35. Kitaysky A.S., Kitaskaia, E.V., Piatt, J.F., Wingfield J.C. Benefits and costs of increased levels of corticosterone in seabird chicks. *Hormones and Behavior* 2002, enviado.
36. Sims C.G., Holberton R.L. Development of the corticosterone stress response in young northern mockingbirds (*Mimus polyglottos*). *General and Comparative Endocrinology*. 2000; 119: 193-201.
37. Sorenson, L., Nolan, P., Brown, A., Derrickson, S., Monfort, S. Hormonal dynamics during mate choice in the northern pintail: a test of the challenge hypothesis. *Animal Behaviour* 1997; 54:1117-1133.
38. Dittami, J., Reyer, H.U. A factor analysis of seasonal, behavioral, hormonal and body weight changes in adult male barheaded geese, *Anser indicus*. *Z. Tierpsychol.* 1981; 55:289-324.
39. Rohwer S., Wingfield J.C. A field study of social dominance, plasma levels of luteinizing hormone and steroid hormones in wintering Harris Sparrows. *Z.Tierpsychol.* 1981; 57:173-183.
40. Myhre, G., Ursin, H., Hanssen, I. Corticosterone and body temperature during acquisition of social hierarchy in the captive willow ptarmigan (*Lagopus l. Lagopus*). *Z.Tierpsychol.* 1981; 57:123-130.
41. Núñez – de la Mora A., Drummond H., Wingfield J. Hormonal correlates of dominance and starvation – induced aggression in chicks of the blue – footed booby. *Ethology* 1996; 102:748-761.
42. Ramos Fernández. Endocrinología de la dominancia social en las crías del bobo de patas azules (*Sula nebouxii*). Tesis de Licenciatura UNAM Instituto de Investigaciones Biomédicas, 1993.
43. Ramos – Fernández G., Núñez – de la Mora A., Wingfield J., Drummond H. Endocrine correlates of dominance in chicks of the blue – footed booby (*Sula nebouxii*): testing the challenge hypothesis. *Ethology Ecology and Evolution* 2000; 12:27-34.

44. Drummond H., Canales C. Dominance between booby nestlings involves winner and loser effects. *Animal Behavior* 1998; 55:1669-1676.
45. Beletzky L.D., Orians G.H., Wingfield J.C. Relationships of steroid hormones and polygyny to territorial status, breeding experience, and reproductive success in male red-winged blackbirds. *The Auk* 1989; 106:107-117.
46. Romero, L.M., Soma, K.K., Wingfield, J.C. The hypothalamus and adrenal regulate modulation of corticosterone release in redpolls (*Carduelis flammea* – an arctic – breeding song bird). *General and Comparative Endocrinology* 1998; 109:347-355.
47. Wingfield J.C., Farner D.S. The determination of five steroids in avian plasma by radioimmunoassay and competitive protein binding. *Steroids*. 1975; 26: 311-327.
48. Campbell D.T., Stanley J.C. *Experimental and Quasi - experimental Designs for Research*. Rand McNally, Chicago. 1966.
49. Zar J.H. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, 2^a ed. EUA, 1990.
50. Kitaysky A.S., Kitaiskaia E.V., Wingfield J.C., Piatt J.F. Dietary restrictions causes chronic elevation of corticosterone and enhances stress response in red – legged kittiwake chicks. *Journal of Comparative Physiology B*. 2001a; 171: 701-709.
51. Osorno, J.L., Drummond, H. The function of hatching asynchrony in the blue footed booby. *Behav. Ecol. Sociobiol* 1995; 37:265-273.