



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

¿Pueden gazapos del conejo europeo,
Oryctolagus cuniculus,
orientarse hacia el nido por el olor?

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

EMMA GARAY VILLAR



Directora de tesis:
Dra. Robyn Elizabeth Hudson





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA

Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias

Presente

Comunicamos a Usted que hemos revisado el trabajo escrito:

¿Pueden gazapos del conejo europeo *Oryctolagus cuniculus*, orientarse hacia el nido por el olor?

realizado por Emma Garay Villar

con número de cuenta 9550399-4

quién cubrió los créditos de la carrera de biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

R. E. Hudson

Dra. Robyn Elizabeth Hudson

Propietario

J. L. Osorno Cepeda

Dr. Jose Luis Osorno Cepeda

Propietario

Rita V. Arenas Rosas

Biol. Rita Virginia Arenas Rosas

Suplente

Jaime Saldívar Rae

Biol. Jaime Saldívar Rae

Suplente

Gabriel Roldán Roldán

Dr. Gabriel Roldán Roldán

Consejo Departamental de biología

Juan Manuel Rodríguez Chávez
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

A mis padres por su amor y apoyo.
Por enseñarme que todo es posible.

A mi hermana Onix por caminar juntas y ser
mi amiga y confidente en todos estos años.

A mis abuelos que se que aunque estén
lejos siempre los tengo a mi lado y por haber
compartido tantos años importantes de mi vida

AGRADECIMIENTOS

A Robyn, por su apoyo, su entusiasmo en el estudio de la conducta y por enseñarme a sobrevivir hasta en los momentos mas críticos .

A mis sinodales Jaime, Rita, Gabriel y José Luis por sus valiosos comentarios, preguntas correcciones y su tiempo que enriquecieron este trabajo.

A Ivette, por apoyarme siempre hasta en momentos críticos, Diana por darme tan buenos consejos y a Marcos, Luis y Carolina por compartir el espacio.

A Jordi por su amor y apoyo.

A Maricela por haberme ayudado a analizar los datos y hacer experimentos.

Esther por haberme dado las primeras ideas de cómo hacer esta tesis.

Este trabajo se llevo a cabo bajo el apoyo de PAPIIT- IN217100

Índice

Resumen

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introducción | 1 |
| 1.1 | Olfato | 2 |
| 1.1.1 | Mamíferos..... | 4 |
| 1.1.2 | Mamíferos neonatos..... | 5 |
| 1.1.3 | El nido..... | 6 |
| 1.1.4 | Orientación al nido..... | 6 |
| 1.2 | El conejo europeo como modelo para el estudio de la conducta guiada por olores durante el desarrollo temprano..... | 7 |
| 2 | Antecedentes | 8 |
| 2.1 | Conducta maternal en el conejo europeo..... | 8 |
| 2.1.1 | Embarazo y construcción del nido maternal..... | 8 |
| 2.1.2 | Parto..... | 10 |
| 2.1.3 | Amamantamiento y destete..... | 10 |
| 2.2 | Conducta de los gazapos..... | 12 |
| 2.2.1 | Aprendizaje olfativo..... | 12 |
| 3 | Objetivo e hipótesis..... | 13 |
| 3.1 | Objetivo general..... | 13 |
| 3.1.1 | Objetivos particulares..... | 13 |
| 3.2 | Hipótesis..... | 13 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4 | Métodos generales..... | 13 |
| 4.1 | Animales..... | 13 |
| 4.2 | Diseño experimental..... | 14 |
| 4.2.1 | Pruebas conductuales..... | 15 |
| 4.2.2 | Grupos experimentales..... | 18 |
| 4.2.3 | Pruebas de confiabilidad..... | 20 |
| 4.3 | Análisis estadístico..... | 20 |
| 5 | Experimento I ¿Se orientarán gazapos recién nacidos hacia el olor del nido? | 21 |
| 5.1 | Métodos..... | 21 |
| 5.2 | Resultados..... | 22 |
| 5.3 | Discusión..... | 26 |
| 6 | Experimento II ¿Se orientarán gazapos recién nacidos hacia un olor novedoso?..... | 28 |
| 6.1 | Métodos..... | 28 |
| 6.2 | Resultados..... | 28 |
| 6.3 | Discusión..... | 31 |
| 7 | Experimento III ¿Se orientarán gazapos recién nacidos sin experiencia postnatal hacia el olor del nido?..... | 32 |
| 7.1 | Métodos..... | 32 |
| 7.2 | Resultados..... | 32 |
| 7.3 | Discusión..... | 33 |

| | |
|---|----|
| 8 Experimento IV ¿Que componentes del nido son atrayentes?..... | 36 |
| 8.1 Métodos..... | 36 |
| 8.2 Resultados..... | 37 |
| 8.3 Discusión..... | 42 |
| 9 ¿Como es que los gazapos logran permanecer por mas tiempo en una zona de la arena con olores del nido?..... | 43 |
| 10 Discusión general..... | 50 |
| 11 Conclusiones..... | 53 |
| 12 Bibliografía..... | 54 |
| 13 Anexo..... | 61 |

Resumen

Los estímulos olfativos juegan una parte importante en la regulación de muchos aspectos de la vida de los mamíferos terrestres. Las crías de el gato, la rata, el hámster, el ratón y el conejo presentan una fuerte afinidad por claves olfativas particulares asociadas al nido. En esta etapa el olfato les confiere una enorme capacidad de respuesta y adaptación hacia las constantes demandas del ambiente. Existen diversos estudios sobre el desempeño de la olfacción durante la conducta de succión de mama en diversas especies. En particular, en el conejo europeo, es esencial la presencia de una feromona materna para desencadenar la conducta de búsqueda de pezón y el amamantamiento. Pero poco se sabe del papel que tiene el olor del nido en la olfacción temprana de los gazapos (crías) al cuál están expuestos desde el nacimiento.

El nido tiene un ambiente complejo de olores, las fuentes del olor del nido son: pasto seco o hierbas, pelo, heces fecales y líquido amniótico. Los gazapos aprenden información química recibida *in útero* o postnatalmente de la madre, la leche y del nido. Esto nos llevó a investigar si las crías recién nacidas del conejo pueden orientarse hacia el nido usando claves olfatorias y si esta habilidad depende de la experiencia postnatal a su nido. Para ello se utilizaron gazapos de del día 0 (nacimiento) con los cuales se forman 10 grupos experimentales divididos en una serie de 4 experimentos. Se utilizaron 4 estímulos familiares: olor al material de su nido, olor al pelo de la madre, olor a las heces de la madre y 2 estímulos novedosos: Chanel N°5 y esencia de naranja, u olor a las heces de un macho adulto.

Para realizar las pruebas se construyó un aparato experimental donde se probó a cada gazapo. Este aparato experimental contenía una arena de prueba que estaba dividida en tres zonas: sin olor, inicial o neutra y con olor. Los parámetros que se midieron fueron la latencia a llegar a la zona del olor del nido, el tiempo de permanencia en las zonas de la arena, la actividad locomotora y la trayectoria que seguían los gazapos en la arena. Se encontró que las crías no requieren de experiencia postnatal al nido para orientarse hacia el nido maternal, esto sugiere que la preferencia por el olor del nido puede iniciarse desde una etapa prenatal.

1. Introducción

Estamos expuestos a un bombardeo continuo de moléculas libres en el medio que nos rodea. A través de los sentidos del olfato, el gusto, estas moléculas nos proporcionan información importante que utilizamos de forma constante en la vida cotidiana. Dichas moléculas nos informan sobre la disponibilidad de alimento y del placer o peligro potencial asociado a ellos e inician los cambios fisiológicos necesarios para la digestión, la utilización de los alimentos ingeridos, la reproducción y comunicación intra- e inter-específica. Por lo tanto el sistema olfatorio detecta e integra y provee al individuo, de la información necesaria para su supervivencia (Serby & Chobor 1992, Corby *et al* 1982).

Un ejemplo es cuando diversos organismos al percibir olores desagradables evitan la ingestión de alimentos en mal estado o sustancias potencialmente venenosas. Asimismo, es posible detectar la presencia de contaminantes en el aire (Mora-Novaro & Sánchez-Criado 1992).

En particular en muchos mamíferos, incluyendo al ser humano, el sentido del olfato desempeña un papel adicional provocando respuestas fisiológicas y de comportamiento en relación con los miembros de su misma especie.

En el hombre la capacidad olfatoria es limitada en comparación con la de algunos otros mamíferos. A pesar de ello podemos percibir miles de moléculas olorosas distintas (odorantes). Por ejemplo los perfumistas están muy acostumbrados a discriminar entre olores y afirman poder distinguir hasta 5000 tipos distintos de olores, otro ejemplo es el de los catadores de vino que admiten poder separar más de 100 componentes distintos del gusto basándose en combinaciones de aromas y sabores (Kandel *et al* 2001).

1.1 Olfato

Las células sensoriales especializadas de la nariz y la boca son sensibles a las moléculas que se huelen y saborean, estas transmiten información al cerebro. En el sistema olfatorio, las células sensoriales son neuronas bipolares que residen en un neuroepitelio especializado situado en la región posterior de la cavidad nasal. Cada neurona emite una sola dendrita del polo apical hacia una prominencia de la cual salen 5-20 cilios situados en la capa de moco que recubre el epitelio. En conjunto estos cilios contienen millones de receptores de membrana capaces de unirse a moléculas de diferentes odorantes. Del polo basal de cada neurona nace un axón, el cual atraviesa la lámina cribosa situada sobre la cavidad nasal, que llega al bulbo olfatorio y forma varias sinapsis con neuronas mitrales las cuales reenvían las señales hacia la corteza olfatoria (Kandel *et al* 2001).

Desde organismos unicelulares hasta los vertebrados hacen uso de sustancias químicas con el fin de obtener información; filogenéticamente éste es el medio más antiguo de interacción entre un organismo y su ambiente. Por ejemplo, en las bacterias como *Escherichia coli*, los aminoácidos aspartato, serina, y los azúcares como la ribosa, galactosa, maltosa atraen a las bacterias (Mason 1990). Estos organismos cuentan con un aparato sensorial que responde a señales químicas de su ambiente y así localizar alimento o evadir sustancias tóxicas (Kleene 1986; Adler 1987, Van Hutten & Preston 1987, Mason 1990; Agosta 1992). Entre los invertebrados encontramos también a la polilla del gusano de seda *Bombyx mori* estudiada por el químico alemán ganador del premio Nobel Adolph Butenandt, que a finales de 1930, emprendió el aislamiento de atrayentes sexuales de esta polilla. Después de unos veinte años esta investigación condujo hacia la identificación de bombikol, el atrayente sexual de la hembra (Butenandt *et al* 1961).

Por otra parte el zoólogo alemán Karl von Frisch, conocido por sus trabajos sobre la comunicación en abejas, contribuyó también al estudio la comunicación química con un trabajo sobre el alevín europeo *Phoxinus phoxinus* (Frisch 1941), el trabajo surgió de dos observaciones casuales: la primera fue cuando marcó con una incisión cerca de la cola a un alevín y al regresarlo al grupo, los demás alevines se volvieron temerosos y algunos de ellos se retiraron; la segunda cuando observó que un alevín se atascaba en el borde del tubo de alimentación y luchaba para liberarse, él lo liberó, y cuando éste nadó alejándose hacia el grupo los demás individuos huyeron asustados. Von Frisch llamó al agente responsable de esta reacción de miedo “sustancia de alarma”. Para von Frisch estos episodios fueron lo suficientemente interesantes para llevar a cabo una investigación detallada y los resultados fueron cuidadosamente documentados posteriormente dirigieron el rumbo de gran parte de la investigación en la comunicación química de peces.

Posteriormente Peter Karlson y Martin Lüscher en 1959 acuñaron la palabra feromona para describir una señal química transmitida entre miembros de la misma especie. El término proviene de dos palabras griegas: *pherein* (transferir) y *hormon* (excitar). Las feromonas son sustancias químicas o mezclas de ellas que una vez liberadas, tienen una existencia independiente al organismo que la produce. Estas pueden ser acarreadas por la brisa o por una corriente de agua y llevar su mensaje a un lugar distante. Las señales químicas menos volátiles permanecen en un mismo sitio y pueden estar activas durante varios días. La volatilidad, persistencia y estabilidad son propiedades de las feromonas que afectan su permanencia en un mismo sitio de forma activa durante varios días. Estas propiedades permiten la comunicación entre los individuos aún en ausencia del animal emisor (Hart 1985). Las feromonas provienen de diversas secreciones y excreciones del organismo (Agosta 1992) cuyas fuentes principales son las glándulas cutáneas, las heces, la saliva, las secreciones vaginales, la orina y el aliento (Drickamer 1999). Estas producen un cambio en la conducta, desarrollo o fisiología del individuo receptor (Vandenbergh 1999).

En los insectos la mayoría de las especies sociales poseen olores por los cuales distinguen a los miembros de la misma colonia. En el caso particular de las hormigas harvester *Pigonomymex* se sabe que cuando un olor colonial específico es puesto en el terreno de la vecindad inmediata al nido, éste induce la aversión de extraños. Otro ejemplo es la hormiga tejedora africana *Oecophylla longinoda* que utiliza feromonas para anunciar y combatir la invasión de su territorio a obreras extrañas y muestra una conducta excepcionalmente agresiva (Wilson 1975, Hölldobler 1976, Hölldobler & Wilson 1977).

1.1.1 Mamíferos

Los estímulos olfativos también juegan una parte importante en la regulación de muchos aspectos de la vida de los mamíferos terrestres (Cheal 1975, Stoddart 1976, Vandenbergh 1983, Albone & Shirley 1984, Doty 1986). Ellos usan el olfato en muchos contextos y con diversos propósitos: para encontrar comida (forrajeo, caza), detectar enemigos y escapar de ellos, como medio de comunicación (especialmente aspectos reproductivos, marcaje del territorio, cortejo, determinar la condición reproductiva de la hembra, atracción del macho, reconocimiento entre madres y crías; entre otros).

En particular los mamíferos nocturnos tienen muy desarrollado el sentido del olfato y necesitan distinguir información química (Agosta 1992) que se utiliza durante la búsqueda del alimento en distancias cortas (Heth *et al* 2002).

También se ha encontrado que el tamaño de las estructuras olfatorias refleja la importancia de la olfacción en una especie en particular, por ejemplo el bulbo olfatorio del hombre es pequeño comparado con el resto del cerebro, mientras que la rata, la cual depende de la olfacción para su supervivencia y reproducción, tiene bulbos olfatorios relativamente grandes (Shiple *et al* 1995).

Existen diversos ejemplos de diversas especies en la dispersión de señales químicas: el hipopótamo (*Hippopotamus amphibius*) que agita la cola mientras orina y manda un rocío que cae en plantas cercanas; los machos del guepardo (*Acinonyx jubatus*) y el gato doméstico (*Felis domesticus*) que mandan chorros de orina hacia pequeñas ramas de vegetación y otros objetos (Agosta 1992). Dichas señales pueden ser indicadores de edad, sexo y condición reproductiva, salud, sumisión o dominancia, reconocimiento del parentesco y ocupación territorial (Stoddart 1976).

Estas señales están presentes en la comida, material del nido o productos biológicos generados por el metabolismo (Sherman *et al* 1998).

1.1.2 Mamíferos neonatos

En mamíferos, los neonatos altriciales nacen con los ojos y canal auditivo cerrados, sin pelo y con poca capacidad locomotora. En esta etapa de desarrollo temprano el olfato es de gran importancia particularmente durante el periodo de lactancia, siendo este uno de los sistemas sensoriales con mayor desarrollo al nacimiento e incluso funcional durante la vida fetal (Hudson & Distel 1999, Schaal *et al* 2000). Se ha observado en diversos estudios que las crías tienen la habilidad de aprender estímulos olfatorios, esto ha sido demostrado en los fetos de varios mamíferos, como las ratas, (Pedersen & Blass 1982, Smotherman & Robinson 1985, 1991a; Smotherman *et al* 1991b); los conejos (Bilkó *et al* 1994, Semke *et al* 1995) y las ovejas (Schaal *et al* 1995).

Después de nacer, las crías de varias especies son guiadas hacia el pezón por medio de claves olfatorias que son secretadas por los pezones y/o la piel mamaria (Hudson & Distel 1983).

1.1.3 El nido

El nido da protección a las crías, les provee de una temperatura adecuada, alimento entre otras características necesarias para su supervivencia (Corby *et al* 1982). Los nidos pueden ser construidos en guaridas o cuevas (carnívoros), en madrigueras subterráneas coloniales (algunos conejos y roedores) o aisladas de la colonia u otros coespecíficos, en troncos huecos o entre ramas de árboles (ardillas y marsupiales arbóreos). El material del cual están construidos los nidos de especies herbívoras es principalmente de plantas y en el caso particular de los conejos, los nidos están forrados por el pelo de la madre.

Algunas especies como los gatos no construyen nidos verdaderos, en lugar de esto, se ha observado que dan a luz en un lugar protegido del cual la madre mueve a las crías al cargarlos por el cogote.

1.1.4 Orientación al nido

La conducta guiada por el olfato ha sido estudiada en etapas tempranas del desarrollo, para lo cual se han utilizado diversas pruebas conductuales con el fin de medir el desempeño olfatorio.

Las crías presentan una fuerte afinidad por claves olfativas particulares asociadas al nido, las cuales son depositadas por la madre y la camada, esta preferencia es fortalecida en un tiempo estratégico durante el desarrollo, en particular, durante las dos primeras semanas de vida (periodo de lactancia y/o destete), cuando los estímulos químicos son importantes para la adhesión al pezón y ayudan a la cría a orientarse hacia el nido (Bolles & Woods 1964, Alberts 1976) entre otros.

Como ejemplos tenemos al gato (Kovach & Kling 1967, Rosenblatt 1971), la rata (Tobach *et al* 1967, Shapiro & Salas 1970, Nyakas & Endoczi 1970, Gregory & Pfaff 1971, Marr & Lilliston 1970, Leon & Moltz 1971), el hámster (Devor & Schneider 1974) y el ratón (Breen & Leshner 1977) parecen ser atraídas por una mezcla de olores del nido o alguno de sus componentes (camada, madre, alimento). Un ejemplo es cuando las crías del gato son atraídas hacia los olores de coespecíficos (Rosenblatt 1971, 1972) que son depositadas en el suelo y responden con una conducta de orientación la cual cambia de la primer semana a la segunda semana (Rosenblatt *et al* 1969). Otro ejemplo ocurre cuando las crías de jerbos son accidentalmente expulsadas del nido durante el proceso de acarreo cuando se desprenden del pezón y las crías regresan al nido por claves olfatorias (Kaplan & Hyland 1972).

1.2 El conejo europeo como modelo para el estudio de la conducta guiada por olores durante el desarrollo temprano.

El conejo europeo, *Oryctolagus cuniculus*, es un ejemplo con un gran número de estudios que dan testimonio de la importancia de las señales químicas en la vida social de esta especie gregaria (Mykytowycz 1970, Mykytowycz *et al* 1984, Bell 1980, 1985) donde el papel del olfato le confiere una enorme capacidad de respuesta y adaptación ante las constantes demandas del ambiente. A través de él, el conejo puede encontrar el pezón por medio de una feromona secretada por la madre, elegir alimento, percibir territorios marcados por otros coespecíficos entre otras funciones. Es importante resaltar el papel crítico que tienen las señales olfatorias emanadas de la madre cuya función principal es la supervivencia de las crías hasta la independencia (Schley 1977, Distel & Hudson 1985, Hudson & Distel 1995).

Existe evidencia de que las crías aprenden información quimiosensorial recibida en la vida temprana: *in útero*, la leche y el nido (Bilkó *et al* 1994, Hudson

& Distel 1999) esto se puede estudiar durante el amamantamiento que presenta una serie de conductas por medio de las cuales se puede medir el aprendizaje de olores y se pueden emular de forma similar en el laboratorio en comparación a la que se lleva a cabo en conejos de vida libre y nos permite estudiar relación madre-cría. En el presente trabajo, el probar la orientación al nido mediada por el olor, contribuirá al entendimiento de la vida temprana de dicha especie.

2. Antecedentes

2.1 Conducta maternal en el conejo europeo

La conducta parental en el conejo europeo está limitada al cuidado maternal a través del amamantamiento, acicalamiento y construcción del nido. La única contribución de los machos es el aporte de la información genética a los gazapos (Martínez-Gómez *et al* 2002, revisado en Hudson y Distel 1989).

2.1.1 Embarazo y construcción del nido

En el conejo el apareamiento es típicamente breve y consiste de una simple intromisión del macho acompañada de una serie de movimientos pélvicos rápidos, los cuales culminan en una eyaculación que se lleva a cabo en tan solo unos cuantos segundos (Hudson & Distel 1998). En las hembras de laboratorio, un encuentro copulatorio breve es suficiente para desencadenar el reflejo ovulatorio e iniciar la gestación, que dura normalmente 31 días. Alrededor de dos a tres días antes del parto la coneja construye el nido. El inicio de esta conducta es cuando la madre escarba una madriguera subterránea y dentro de ella construye un nido formado por pasto o hierbas secas y su propio pelo (Fig 1). La construcción del nido está relacionada con el descenso de los niveles de la progesterona mientras que los del estrógeno se mantienen constantes esto es como precondition para el parto, varios

días antes de término del embarazo (González-Mariscal *et al* 1994b, Martínez-Gómez *et al*, 2002). Inmediatamente después del parto la madre deja a las crías y solamente regresa a amamantarlas por un periodo de 3-5 min una vez cada 24 hrs. Durante el amamantamiento la madre simplemente se posa encima de la camada (Hudson & Distel 1982) de otros mamíferos con crías altriciales, como son las ratas y gatos donde la madre permanece por más tiempo en el nido. Además, debido a que la coneja no lleva a cabo la conducta de acarreamiento, las crías deben mantener el contacto con el nido sin la ayuda de la hembra (Hudson & Distel 1982).

Componentes del nido:

1) Pasto o hierbas secas: en el primer paso de construcción del nido las madres colectan diferentes tipos de pasto y hierbas secas (Mykytowycz 1968) o en condiciones de laboratorio paja o viruta que se coloca dentro de las cajas nido (Hudson & Distel 1982).

2) Pelo: la madre se arranca el pelo del vientre y costados (Hudson & Distel 1998), posteriormente lo coloca dentro del nido (en condiciones naturales) o caja nido (condiciones del laboratorio).

3) Heces fecales: pocos días antes y después del parto, la madre deposita heces fecales en el nido (Hudson *et al* 1996).

4) Líquido amniótico: Durante el parto el fluido amniótico, la sangre y los restos de las placentas son también depositados en el nido (Hudson & Distel 1998, Hudson *et al* 1999).

2.1.2 Parto

El parto generalmente sucede durante la madrugada o en su defecto en el transcurso del día (Hudson *et al* 1999) es usualmente rápido y frecuentemente no dura más de 10-15 min en un nacimiento de 10 o más crías (Hudson *et al* 1999, Martínez-Gómez *et al* 2002). Como la vagina de la coneja es larga y el cordón umbilical generalmente se rompe en el canal del nacimiento, es importante que las crías sean rápidamente expulsadas. Asegurado por la gran cantidad de oxitocina liberada al torrente sanguíneo durante el parto (Fuchs & Dawood 1980) y que posiblemente es incrementado con la succión de pezones de las primeras crías expulsadas. Entre el nacimiento de cada cría, la coneja lame los fluidos de las crías y del nido y consume rápidamente las placentas (Hudson *et al* 1999). Inmediatamente después de dar a luz la coneja deja a las crías, cierra la entrada de la madriguera y regresa a amamantarlas después de 24 h aproximadamente (Hudson & Distel 1982, González-Mariscal *et al* 1998b, 1989, Hudson *et al* 1999).

2.1.3 Amamantamiento y destete

Conforme las crías van naciendo las madres las lamen y se comen las placentas. Los gazapos después de ser lamidos se adhieren rápidamente a los pezones de la madre por solo unos segundos (Hudson & Distel 1982, Hudson *et al* 1996, 1999), después, la coneja sale del nido, cierra la entrada de la madriguera y sólo regresa a amamantarlas después de 24 h aproximadamente. (Hudson & Distel 1982, 1989, 1998). Posteriormente las crías en una poco antes del destete, ingieren las heces de la madre.

Los gazapos son bastante activos al nacer, ellos anticipan la llegada diaria de la madre, aumentando su actividad conforme se acerca la hora del día en que son amamantadas (Hudson & Distel 1982, 1989, Jilge & Hudson 2002).

Experimentalmente se ha descrito la conducta de los gazapos durante la succión de mama esta se compone de varias etapas, entre los cuales destacan la búsqueda y la consecuente adhesión y succión del pezón (Hudson & Distel 1983, Hudson *et al* 2002)

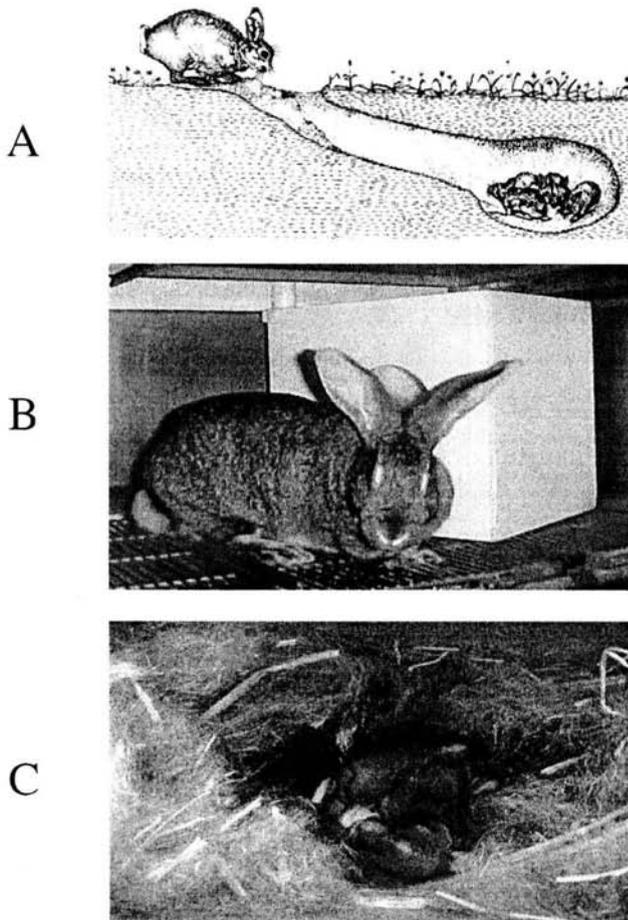


Figura 1. A) Coneja que visita a sus crías (madriguera natural) (modificado de Mykytowycz 1968). B) Caja nido del laboratorio. C) Vista de un nido típico de laboratorio compuesto de paja y pelo de la madre.

2.2 Conducta de los gazapos

2.2.1 Aprendizaje olfativo

Los gazapos aprenden información química recibida ya sea en útero o postnatalmente que proviene del vientre de la madre, la leche y del nido (Allingham *et al* 1999, Altbäcker *et al* 1995, Semke *et al* 1995, Bilkó *et al* 1994, Hudson 1993a, Hudson 1985, Hudson *et al* 1999, Kinderman *et al* 1994). Basándose en la evidencia conductual y fisiológica Hudson y Distel en 1983, 1990, 1995 concluyeron que las crías de conejo son motivadas y dirigidas a adherirse a los pezones por una clave olorosa especial en el vientre de la madre llamada feromona de búsqueda de pezón. Además, los gazapos pueden aprender olores novedosos asociados a la feromona de búsqueda de pezón si el vientre de la madre es perfumado justo antes del amamantamiento. A partir de esto, se llevaron a cabo diversos estudios en los que los gazapos fueron condicionados a diferentes olores tales como perfume comercial, aceite de alcanfor disuelto en alcohol, aroma de citral sin alcohol o jugo de ajo untado en el vientre de la madre (Hudson 1985, Hudson & Distel 1986, 1987, Allingham *et al* 1999). Tras una sola exposición a un olor novedoso durante el evento de amamantamiento, las crías del conejo pueden responder a dicho olor y mostrar la conducta de búsqueda de pezón 24 hrs después de la corta exposición. De hecho, aún después de varios días de haber sido condicionados y sin más exposiciones ni al olor ni a la madre (los gazapos son criados a mano tras un solo amamantamiento con el olor), los gazapos siguen respondiendo al olor con la conducta de búsqueda (Hudson 1985). Este tipo de aprendizaje, como muchos otros aprendizajes neonatales, está acotado a un periodo sensible (Hudson 1993b) que abarca desde el día del nacimiento hasta aproximadamente el día cuatro postparto (Kindermann *et al* 1994).

3. Objetivo e hipótesis

3.1 Objetivo general

Determinar si las crías recién nacidas del conejo pueden orientarse hacia el olor del nido.

3.1.1 Objetivos particulares

- a. Probar si las crías recién nacidas localizan el nido por el olor.
- b. Analizar como responden las crías ante olores novedosos.
- c. Probar si las crías pueden orientarse hacia el olor del nido sin haber recibido experiencia postnatal a dicho olor.
- d. Probar que componentes olorosos del nido son los que atraen a los gazapos.

3.2 Hipótesis

Las crías del conejo europeo son atraídas al olor del nido.

La orientación hacia el olor del nido depende de la experiencia postnatal a este olor.

4. Métodos generales

4.1 Animales

Se utilizaron un total de 192 gazapos de 114 camadas de conejas de la raza chinchilla (Rabbit Farm, Edo. de Mex.). Las madres eran criadas y mantenidas en el

bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM a una temperatura de 23-27° C y un ciclo de luz-oscuridad de 16/8 h para mantener a las hembras en estro durante todo el año (Hudson & Distel 1990). Los animales tenían acceso *ad libitum* al agua y alimento en croquetas (Harlan Teklad, Hi-Fiber Rabbit Diet, E.U.A.). Las conejas gestantes eran colocadas en jaulas maternas de acero inoxidable de 120 x 60 x 45 (altura) cm. Dentro de cada jaula se colocó una caja nido tres días antes del parto con el suelo cubierto de paja o viruta. Las cajas nido fueron cubos huecos de un tamaño de 28 x 29.5 x 30 (altura) cm; en una cara tenía un orificio circular de 14 cm de diámetro y otra cara estaba formada por una pared deslizante para la limpieza de la caja y la obtención de los gazapos (Fig 1B).

4.2 Diseño experimental

Se llevaron a cabo cuatro experimentos: en el **experimento I** se puso a prueba si las crías recién nacidas localizan el nido por el olor; en el **experimento II** se analizó como responden las crías ante un olor novedoso, es decir un olor del cuál las crías no habían tenido experiencia previa y que no estuvieran presentes en condiciones naturales; **experimento III** se llevó a cabo con el propósito de ver si las crías pueden orientarse hacia el olor del nido sin experiencia postnatal a él; **experimento IV** en este experimento se probó a que componentes del nido responden las crías.

Para la producción de crías que se utilizaron en los experimentos se programaban de tres a cuatro camadas que nacían semanalmente estas crías se utilizaron al día 0 (día de nacimiento) y se formaron grupos independientes (las crías sólo pasaban por una prueba en una sola ocasión) de 16 sujetos de por lo menos ocho camadas diferentes, las crías que se utilizaron fueron de un peso normal por esta raza entre 50-60 g pesadas con una balanza digital (Ohaus TS600S) y marcadas en las orejas con tinta de diferentes colores (con marcadores Edding 3000 no tóxicos). Las camadas se obtuvieron por parto natural o inducido por inyección de

oxitocina, dependiendo del experimento (ver capítulos 5-8). Fue importante controlar el evento de parto para saber la cantidad de tiempo durante el cuál las crías estuvieron expuestas al nido y a la feromona de búsqueda de pezón durante la succión.

Una hora antes de la prueba, cada camada fue removida del la caja nido y se mantuvo en cajas de cartón de 20 x 15 x 14 (altura) cm forradas con tiras de papel absorbente y las crías fueron cubiertas por una franela, a temperatura ambiente de 15-28° C. Posteriormente se llevaron a cabo las diferentes pruebas experimentales. Un aspecto que no se consideró fue el sexo de los gazapos ya que a esta edad es difícil sexarlos de forma confiable y la probabilidad de obtener en promedio un número equivalente de hembras y machos (Drummond *et al* 2000) es 1 a 1 de esta forma se consideró que las crías que se utilizaron en los experimentos fue proporcionalmente el mismo número de hembras que de machos.

4.2.1 Pruebas conductuales

Las Figuras 2 y 3 se muestran la arena de prueba que se utilizó en todos los experimentos para probar la orientación de los gazapos hacia diversos estímulos de olor. La arena fue dividida en una zona inicial al centro y dos zonas de mayor tamaño hacia la derecha e izquierda; una de ellas contenía un estímulo olfativo por debajo de una lámina de acrílico perforada que formaba el piso y la otra no contenía estímulo olfativo. Se utilizaron dos arenas idénticas de forma separada, una para la condición control y otra para la condición experimental. En cada prueba se contrastaron la conducta de las crías ante las dos zonas principales, una con estímulo contra otra sin estímulo o las dos zonas sin estímulo.

Cada prueba tuvo una duración de 360 s se colocó a cada gazapo en la zona inicial de la arena, con su eje mayor perpendicular al eje mayor de la arena y se le dejó en libertad. Después de cada prueba se rotó la arena 180° de un ensayo a otro,

después de cada experimento la arena fue lavada con detergente no perfumado y enjuagada con agua corriente durante 10-15 min.

Todas las pruebas fueron grabadas en video con una cámara Panasonic M9000 en formato VHS, fija en un tripié justamente por encima de la arena de prueba, para su posterior análisis.

Parámetros que se midieron:

Latencia: Tiempo que requiere el gazapo en llegar a la zona CE por primera cuando ha cruzando la línea que limita a dicha zona e introduce la parte anterior del cuerpo (cabeza y extremidades). En el caso de las pruebas control sin un estímulo olfativo, es el tiempo que requiere en gazapo en llegar a cualquier zona (SE ó CE).

Tiempo de permanencia: Suma de los lapsos que permanece el gazapo en cada una de las zonas laterales (SE ó CE) en una prueba de 360 seg.

Actividad locomotora: Suma del número de veces que el gazapo cruza (con la cabeza y las extremidades anteriores) los límites de las subzonas de la arena (ver Fig. 3).

Primera elección: zona a la que entra el gazapo por primera vez (al introducir la cabeza y extremidades anteriores).

Trayectoria: Camino que recorre el gazapo durante toda la prueba (ver **Anexo**).

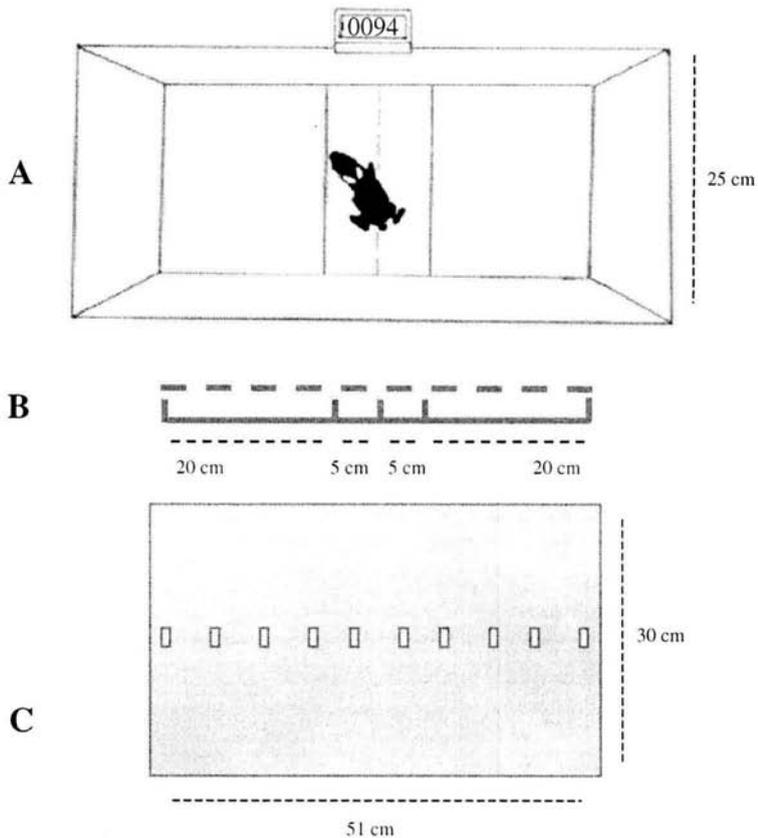


Figura 2 Esquema de la arena de prueba. A) La arena vista desde arriba mostrando la zona inicial en el centro y las dos zonas de igual tamaño en ambos lados; en la parte superior se observa el cronómetro que registra la duración de la prueba. B) Vista lateral de la base de la arena. Esta consistió de una bandeja rectangular de acrílico transparente de 2.5 cm de profundidad que fue dividida en tres zonas por paredes de acrílico y cubierta por una placa de acrílico con perforaciones de 0.5 cm diámetro separadas por un cm, que formaba el piso de la arena. C) Vista lateral de la pared de la arena de 51 x 26 x 30 (altura) cm que fue fabricada de acrílico opaco.

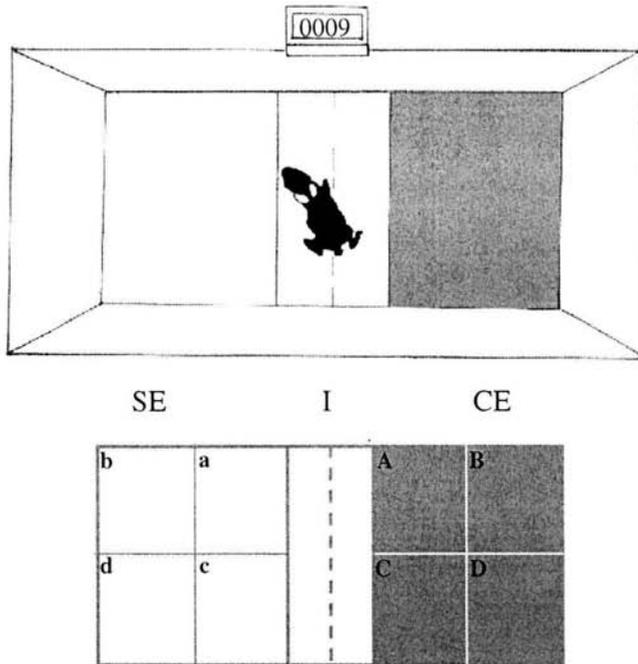


Figura 3 Para medir la actividad se utilizó una arena de prueba dividida en las zonas SE (sin estímulo), I (inicial), CE (con estímulo) y se dividió nuevamente en subzonas A, B, C, D para la zona CE y a, b, c, d para la zona SE.

4.2.2 Grupos experimentales

Se llevaron a cabo pruebas piloto en diversos días (Fig 4) y se encontró que al día de nacimiento (día 0) las crías permanecían mayor tiempo acumulado en la zona con el estímulo (material del nido). Debido a esto, el día 0 fue cuando se llevaron a cabo las pruebas experimentales.

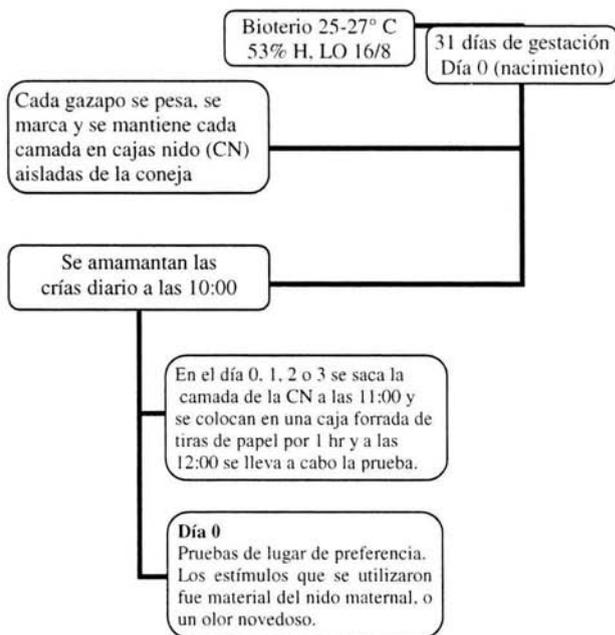


Figura 4 Esquema de las pruebas piloto en diferentes días de edad para encontrar la edad más adecuada para los experimentos.

Se formaron un total de 12 grupos de 16 sujetos de por lo menos ocho camadas diferentes, dependiendo del tipo de estímulo y de la experiencia que habían tenido las crías al nido (medido por el tiempo que permanecían las crías en el nido).

Los estímulos que se utilizaron fueron: material del nido, esencia de naranja, colonia Chanel N°5, pelo del vientre de la madre, heces de la madre, heces de un macho o sin estímulo. Los grupos experimentales y los estímulos de olor serán descritos en detalle en cada uno de los experimentos en las siguientes secciones.

4.2.3 Pruebas de confiabilidad

La confiabilidad inter-observador o consistencia entre dos o más observadores mide el grado al cual dos o más observadores obtienen resultados similares al medir una conducta en la misma ocasión. Esta es la medida del acuerdo, entre diferentes observadores que miden el mismo evento (Martin & Bateson 1993). Debido a que los registros fueron tomados por varios observadores, fue necesario determinar el grado de concordancia entre observadores. Para ello se realizaron pruebas de confiabilidad. Para medir el grado de confiabilidad de una medida entre dos observadores, se llevaron a cabo pruebas de correlación de Pearson, para ello se compararon los registros de 38 gazapos los cuales dos observadores registraban simultáneamente la conducta de tiempo de permanencia de dos pruebas diferentes de 16 gazapos cada una, la primera para el grupo A (con 4-8 hrs de experiencia con el olor del nido), la segunda para el grupo B (0-30 min de experiencia al olor del nido). Los valores de r para la zona **sin olor** del grupo A fueron $r=0.999$ y para el grupo B $r=1$. Para la zona **con olor** del grupo A $r= 0.993$ y para el grupo B $r=1$. Con estos resultados podemos decir que los criterios entre los observadores fueron consistentes.

4.3 Análisis estadístico

Debido al número relativamente pequeño de sujetos por grupo y la gran varianza de los datos estos no tuvieron una distribución normal. Por lo tanto se utilizaron pruebas no paramétricas de significancia estadística, la ji-cuadrada para comparar las diferencias del tiempo que pasan las crías en las dos zonas principales de la arena (capítulos 5-8). En el capítulo 9 se llevaron a cabo las pruebas ANOVAs Kruskal-Wallis para comparar los valores de latencia y la actividad locomotora entre grupos, seguidas por pruebas de Mann-Whitney U considerando un nivel de significancia para todas las pruebas fue de 0.5.

5. Experimento I ¿Se orientarán gazapos recién nacidos hacia el olor del nido?

En este experimento se puso a prueba si las crías recién nacidas localizan el nido por el olor.

5.1 Métodos

Se utilizaron un total de 64 gazapos; 16 experimentales de 10 camadas diferentes para el Grupo A, 16 controles de 13 camadas diferentes y para el Grupo B 16 experimentales de 10 camadas diferentes y 16 controles de 9 camadas diferentes del día 0 con 4-8 h o 0-30 min de experiencia al olor del nido respectivamente. Cada gazapo se marcó en las orejas con un color indeleble para formar un código de identificación para cada gazapo, cada camada fue aislada del olor del nido durante un periodo de 1 hr y posteriormente se llevó a cabo la prueba de preferencia de lugar tanto para el Grupo A como para el Grupo B. Se escogieron al azar dos gazapos por camada para cada prueba a uno se le designó una prueba experimental "olor" y al otro una prueba sin olor o control.

La prueba experimental (Grupo A/Exp), consistió en colocar al gazapo durante un periodo de 360s en la arena (Fig. 5) con 15 gr de material del nido distribuido de forma homogénea en la zona del estímulo; la prueba sin olor o control (Grupo A/Con) consistió en probar al otro gazapo durante el mismo tiempo en una segunda arena de la misma forma pero sin estímulo. Las pruebas experimentales del Grupo B/Exp y B/Con se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones que el Grupo A/Exp y A/Con respectivamente. La única variante fue que las crías que se utilizaron en este experimento tenían de 0 a 30 min de experiencia al nido.

En todas las pruebas, se colocó a cada gazapo, inicialmente, con el eje mayor alineado a la línea media que divide la arena en dos y se dejaron libres de movimiento.

5.2 Resultados

Como se muestra en el panel A de la Figura 5, las crías del Grupo A/Exp pasaron considerablemente mayor tiempo en la zona CE (con estímulo) en comparación a la zona SE (sin estímulo). El panel B de la Figura 5 muestra que 13 crías permaneció más del 50% del tiempo en la zona CE durante ambas mitades de la prueba, 3 crías permaneció más del 50% del tiempo en la zona CE durante una mitad de la prueba y en la zona SE durante la otra mitad de la prueba y 0 crías permanecieron en la zona SE durante ambas mitades de la prueba. La distribución de permanencias de las crías en las dos zonas principales de la arena difirió significativamente (ji-cuadrada = 17.4, df = 2, $p \leq 0.001$).

En el panel A de la Figura 6 se muestra que las crías del Grupo A/Con permanecieron aproximadamente una cantidad equivalente de tiempo en alguna zona principal de la arena, en esta condición ambas zonas no tenían material del nido. En el panel B de la Figura 6, se observa que solamente 4 crías permanecieron más tiempo (mas del 50%) en la zona “con olor” o CE durante ambas mitades de la prueba, 7 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) en una zona de la arena en comparación con la otra y 5 crías permanecen más tiempo en la zona correspondiente a la zona sin olor del Grupo A/Exp durante ambas mitades de la prueba, la distribución de permanencia de las crías en las dos zonas principales de la arena no difirió significativamente (ji-cuadrada = 1.6, df = 2, n.s.).

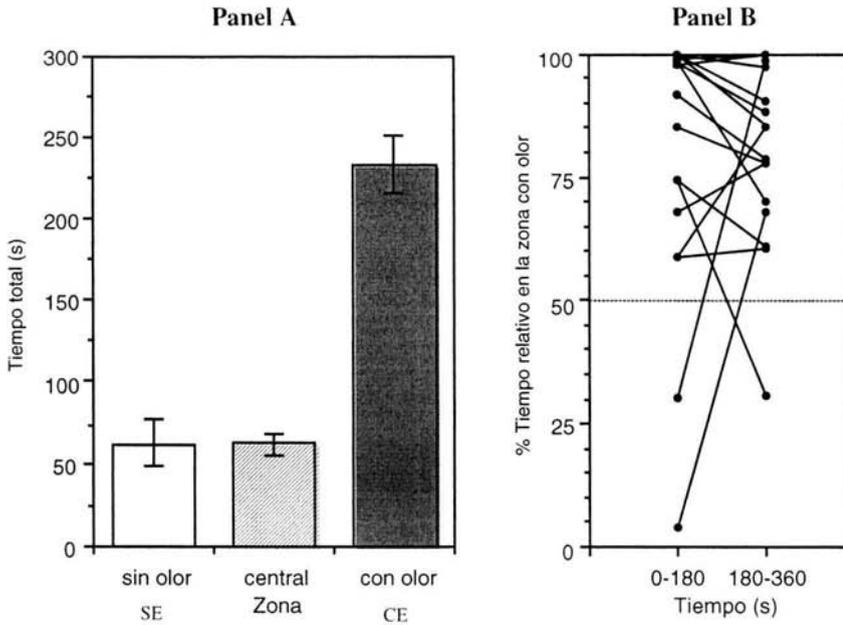


Figura 5 El panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del GrupoA/Exp (n = 16) en las tres zonas de la arena de lugar de permanencia durante el tiempo total de 360 seg. Panel B: Tiempo que permanece cada cría en la zona con olor como porcentaje del tiempo total que pasa en ambas zonas de olor y sin olor. La unión entre dos líneas solamente indica que es el mismo gazapo y **no** que pasa de una zona de la arena a otra.

Las crías del Grupo B/Exp (prueba con olor al nido propio) y Grupo B/Con (prueba sin olor del nido) con solamente 0 a 30 min de experiencia al nido mostraron esencialmente el mismo patrón de conducta en la arena que el Grupo A en las condiciones correspondientes. De este modo se muestra en el panel A de la Figura 7, que las crías del Grupo B/Exp también permanecieron considerablemente más tiempo (más del 50%) en la zona CE con olor. En el panel B de la figura 7 se muestra que 11 gazapos permanecieron en la zona CE durante ambas mitades de la

prueba, 4 gazapos permanecieron en la zona CE durante una mitad de la prueba y la zona SE sin olor durante la otra mitad y que solamente 1 cría permaneció en la zona SE durante ambas mitades de la prueba. La distribución de permanencias de las crías en las dos zonas principales de la arena difirió significativamente ($\chi^2 = 11.4$, $df = 2$, $p \leq 0.01$).

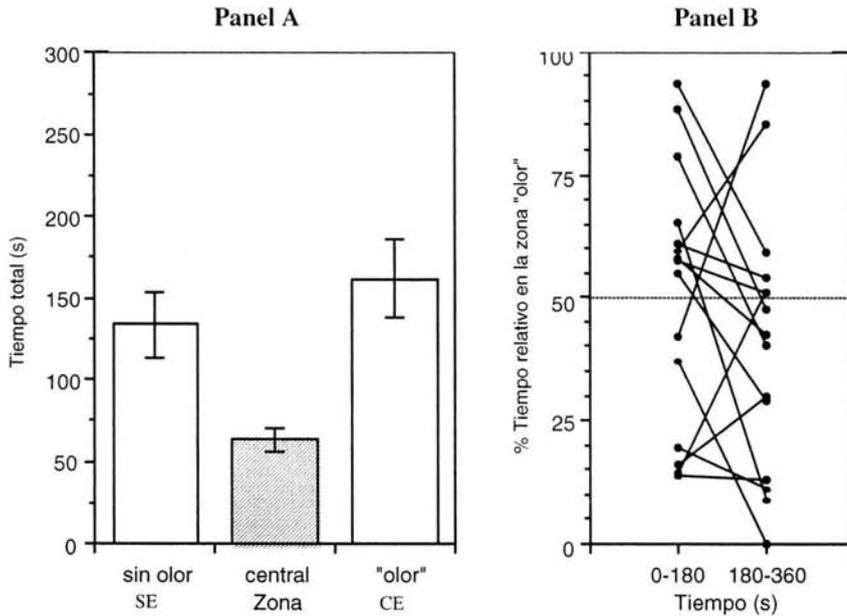


Figura 6 Panel A: Media \pm ESM del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo A/Con ($n=16$) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia sin SE y con estímulo CE odorante durante un tiempo de 360 seg del periodo de prueba total. Panel B: Tiempo que permaneció cada cría en la zona correspondiente a la zona con olor Grupo A/Exp (cf. Fig. 5) como porcentaje del tiempo total de permanencia en ambas zonas principales de la arena.

Las crías del Grupo B/Con permanecieron aproximadamente cantidades iguales de tiempo en las dos zonas principales de la arena. En esta condición

ninguna de las zonas principales tenían material del nido (Fig. 8, panel A). En el panel B de la Figura 8 se puede observar que solamente 3 gazapos permanecieron más tiempo (más del 50%) en la zona con “olor” o equivalente a la zona con olor para el Grupo B/Exp durante ambas mitades de la prueba, 7 gazapos permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de la prueba y en la otra zona durante la otra mitad de la prueba y 6 crías permanecieron más tiempo en la zona SE durante ambas mitades de la prueba , la distribución de permanencia en las zonas principales de la arena no difirió significativamente (ji-cuadrada = 0.1, df = 2, n.s.).

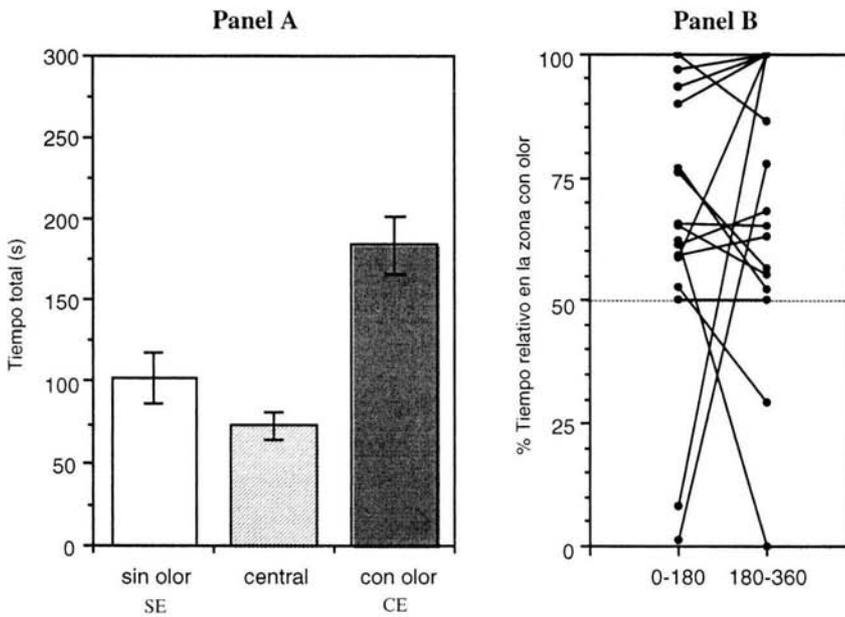


Figura 7 El panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo B/Exp (n = 16) en las tres zonas de la arena del lugar de preferencia durante un periodo de prueba de 360 min. Panel B: Tiempo que permaneció cada gazapo en la zona con olor como un porcentaje del tiempo total.

5.3 Discusión

Tomando los resultados en conjunto de los experimentos anteriores, estos sugieren que a pesar de que solamente las crías tenían pocas horas de edad, estas pudieron percibir el olor del material de su nido incluso bajo condiciones artificiales de una arena de prueba y pudieron usar esto para localizar el nido. Por consiguiente, ambos grupos de crías que fueron probadas con material del nido permanecieron significativamente más tiempo en la zona de la arena con material del nido, mientras que ambos grupos de crías probadas en la arena sin material del nido permanecieron aproximadamente una cantidad de tiempo similar en las dos zonas principales de la arena (SE, CE).

Con el hecho de que las crías del Grupo B/Exp permanecieron significativamente mayor cantidad de tiempo en la zona del material del nido esto fue indicador de que las crías pueden localizar su nido por el olor con poca o tal vez sin experiencia postnatal a él. No obstante también es posible que las crías de los dos grupos experimentales simplemente permanecieran más tiempo en la zona de la arena con el olor del nido debido a que las crías de conejo son generalmente atraídas a cualquier estímulo odorante ya sea novedoso y con un significado biológico no conocido. El experimento II fue diseñado para probar esta posibilidad.

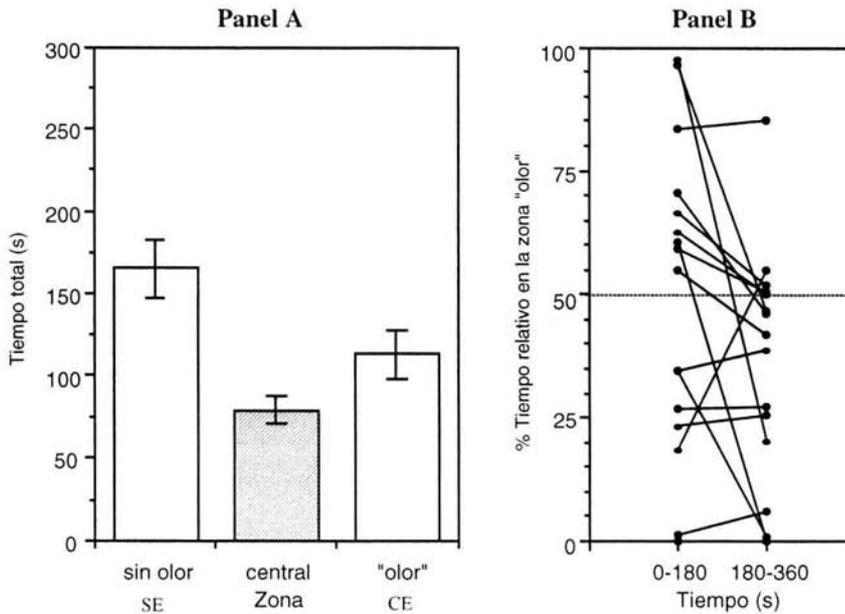


Figura 8 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron las crías del Grupo B/Con ($n = 16$) en las tres zonas de la arena de preferencia de lugar sin un estímulo de olor, durante una prueba de 360 seg. Panel B: tiempo que permaneció cada cría en la zona correspondiente a la zona con olor del Grupo B/Exp (cf. Fig. 7) expresad como porcentaje del tiempo total que pasaron en esta zona.

6. Experimento II ¿Se orientarán gazapos recién nacidos hacia un olor novedoso?

En este experimento se analizó como responden las crías ante un olor novedoso.

6.1 Métodos

Se utilizaron un total de 32 gazapos que se encontraban en condiciones del Grupo A (4-8 hrs de experiencia del nido) que nacieron por parto natural y posteriormente se llevó a cabo el mismo procedimiento que el Experimento I. Los estímulos que se utilizaron fueron olores artificiales, colocados en la zona del estímulo en dos cajas petri alineadas hacia el centro de dicha zona, en ambas cajas petri se distribuyeron de forma homogénea los estímulos.

Para la primera condición, Grupo A/Cha (n = 16/8 camadas), se utilizaron 0.5 ml de agua de tocador Chanel N°5 y en la segunda condición, Grupo A/Nar (n = 16/8 camadas) se utilizaron 0.3 ml de esencia de naranja (McCormick). Se escogió Chanel debido ya que ha sido muy utilizada en el laboratorio en experimentos de aprendizaje con conejos y sabemos que las crías pueden percibir dicha sustancia a bajas concentraciones (Hudson 1985) y la esencia a naranja fue utilizada debido a que es una sustancia comestible con la cual planeamos alimentar a las madres para el aprendizaje de olores prenatales en futuros experimentos (Semke *et al* 1995, Bilkó *et al* 1994, Coureaud *et al* 2002, Hudson & Distel 1999a).

6.2 Resultados

En el panel A de la Figura 9 se muestra que las crías del Grupo A/Cha permanecen aproximadamente cantidades similares de tiempo en las dos zonas principales, esto es si la zona fue perfumada o no. Considerando la conducta

individual de los animales (Fig. 9, Panel A), solamente 7 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) en la zona de Chanel durante la primera y segunda mitad de la prueba, 5 crías permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de la prueba y en otra durante la otra mitad de prueba y 4 crías permanecieron más tiempo en la zona no perfumada durante la primera y la segunda mitad de la prueba, una distribución de permanencia muestra que las crías en alguna zona principal de la arena no presenta diferencias significativas (ji-cuadrada = 0.9, df = 2, n.s.).

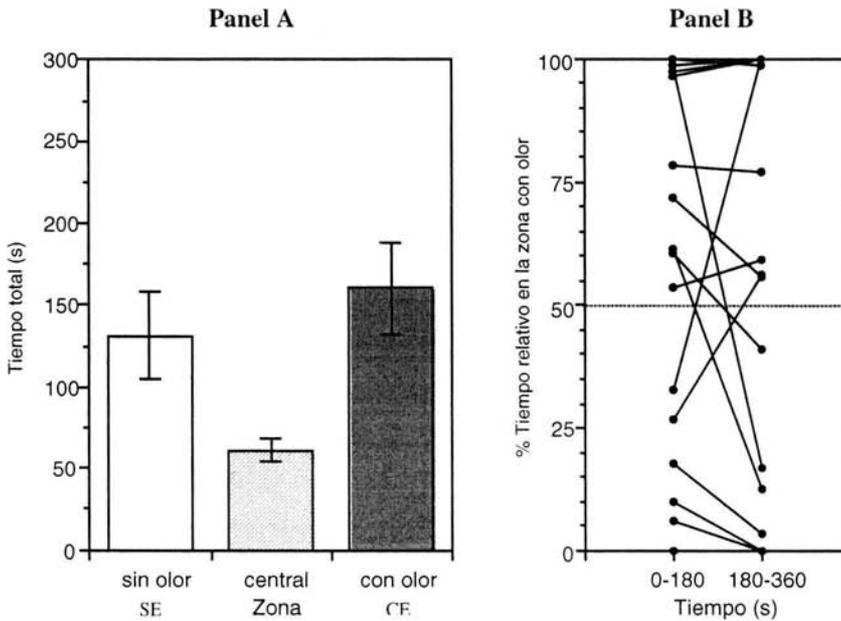


Figura 9 Panel A: Media \pm EE tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo A/Cha (n = 16) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia durante una prueba de 360 s. Panel B: tiempo que permanecen los gazapos en la zona con olor (Chanel No. 5) como porcentaje del tiempo total.

Las crías de Grupo A/Nar mostraron esencialmente el mismo patrón de conducta que el Grupo A/Cha. En el panel A de la Figura 10 se muestra que estas crías también permanecieron una cantidad aproximadamente similar de tiempo en alguna de las zonas principales de la arena, esto es no hubo diferencia si la arena fue perfumada con esencia de naranja o no. Considerando la conducta individual de los animales (Fig. 10, panel B), solamente 5 crías permanecieron más tiempo (mas del 50%) en la zona CE con olor durante la primera y segunda mitad de la prueba , 3 crías permanecieron más tiempo en una de las dos zona durante una mitad de la prueba y la otra en la otra mitad de la prueba y 8 crías permanecieron más tiempo en la zona SE en ambas mitades de la prueba, en una distribución de permanencias en alguna de las zonas principales de la arena no se mostró diferencia significativa (ji-cuadrada= 0.92.4, df = 2, n.s.).

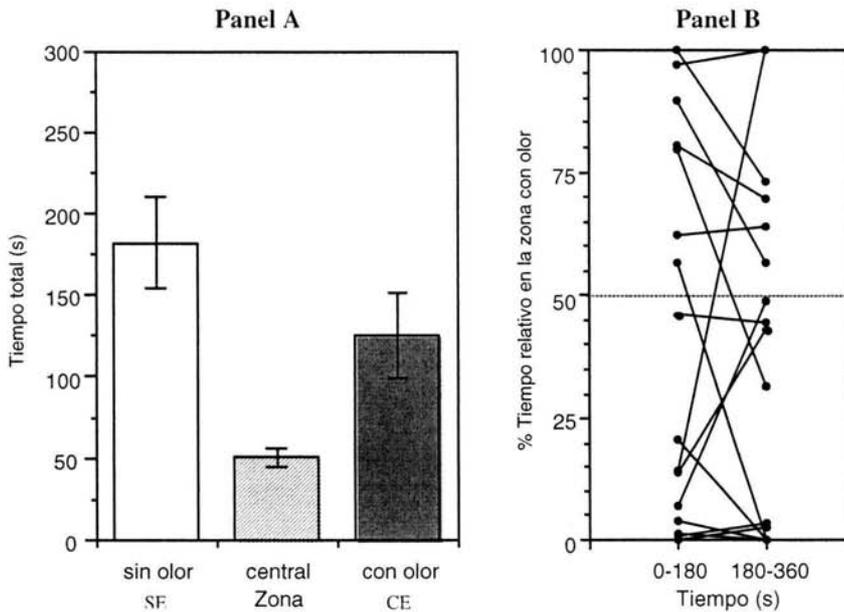


Figura 10 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo C/Nar (n = 16) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia durante una prueba de 360 s. Panel B: tiempo que permaneci3 cada gazapo en la zona con olor (esencia de

naranja) como un porcentaje del tiempo total que permaneció en ambas zonas con olor y sin olor.

6.3 Discusión

Los resultados de las pruebas del experimento II sugieren que la preferencia mostrada por las crías hacia el olor del nido fue en cierto grado específica, suponemos que no fue simplemente el resultado de la tendencia a orientarse hacia un olor o que se quedaran en la vecindad de cualquier olor. Sin embargo puede ser cuestionado si las crías pueden percibir los estímulos odorantes que se utilizaron en las pruebas anteriores. En los antecedentes (2.2.1) se muestra que las crías del conejo recién nacidas tienen bien desarrollado el sentido del olfato (Distel & Hudson 1985; Hudson, 1985, 1993a, 1993b, Hudson & Distel 1995, 1999) y que efectivamente la supervivencia temprana depende de este sentido (Breen *et al* 1977, Hudson & Distel 1983, Distel & Hudson 1985, Hudson & Distel 1995, Coureaud & Schaal 2000, Coureaud *et al* 2001). También se llevaron a cabo estudios que muestran que el conejo aprende rápidamente a asociar el Chanel No. 5 con el amamantamiento, en estos estudios la concentración de Chanel que se utilizó fue menor que la cantidad utilizada en este estudio. Por otra parte a pesar de que no se tuvo información de la habilidad que tenían las crías para percibir el olor de la esencia de la naranja se considero en utilizar una concentración que pudiera ser percibida por la nariz humana en una arena de prueba donde se colocaron a las crías.

Por consiguiente la conclusión tentativa para los resultados del Experimento I y II es que los gazapos pueden localizar el nido por el olor y que esta respuesta es en cierto grado específica hacia el olor del nido. Sin embargo dada la habilidad de las crías del Grupo B/Exp para llevar a cabo esto con muy poca experiencia al nido nos lleva a cuestionarnos si esta preferencia al olor del nido es adquirida postnatalmente es decir si depende la corta experiencia al nido. El Experimento III fue diseñado para contestar esta pregunta.

7. Experimento III ¿Se orientarán los gazapos recién nacidos sin experiencia postnatal hacia el olor del nido?

Este experimento se llevó a cabo con el propósito de ver si las crías pueden orientarse hacia el olor del nido sin experiencia postnatal a él.

7.1 Métodos

Para este experimento se utilizaron 32 gazapos de 21 camadas sin experiencia postnatal al nido que se obtuvieron por parto inducido. Para ello se aplicó una inyección intramuscular de 1 ml de oxitocina (OT) en solución inyectable de 5 UI/1ml. Las crías nacieron en la jaula de la madre y cada gazapo se colocó en una caja de cartón aislada del olor del nido. Posteriormente se siguió el mismo procedimiento del experimento I del Grupo B.

Se utilizaron gazapos con 1hr de edad sin experiencia postnatal al nido para los grupos control y experimental. Para el grupo Grupo D/Exp (sin experiencia al nido propio) n=16/11 donde se probaron a las crías en una arena de lugar de permanencia que contenía en la zona CE 15 g del material del nido materno que se obtuvo 5-10 min antes de la prueba.

7.2 Resultados

En el panel A de la Figura 11 se muestra que las crías del Grupo D/Exp pasaron considerablemente más tiempo en la zona de la arena con material del nido en comparación al tiempo que permanecieron en la zona con olor en la zona sin olor. Considerando la conducta de los animales de forma individual (Fig. 11, panel B) 9 crías pasaron más tiempo en la zona con olor del material del nido en ambas mitades de la prueba, 6 crías permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de la

prueba y en la otra durante la otra mitad de la prueba y solo 1 gazapo permaneció más tiempo en la zona sin material del nido en ambas mitades de la prueba. La distribución de permanencias en alguna zona principal de la arena difirió significativamente (ji-cuadrada_{6.1}, df=, P<0.05).

Como se muestra en el panel A de la Figura 12, las crías del Grupo D/Con permanecieron aproximadamente cantidades de equivalentes de tiempo en alguna zona de la arena, en esta condición, ambas zonas de la arena no tenían material del nido. De nuevo considerando la conducta individual de los animales (Fig. 12, panel B), 6 crías permanecieron más tiempo (mas del 50%) en la zona correspondiente al olor Grupo D/Exp durante ambas mitades de la prueba, 6 crías permanecieron más tiempo en una mitad de la prueba y en la otra durante la otra mitad de la prueba y 4 crías permanecieron más tiempo en la zona correspondiente a el lado sin olor del Grupo D/Exp durante ambas mitades de la prueba en. La distribución de permanencias en alguna zona principal de la arena no difiere significativamente (ji-cuadrada = 0.5, df = 2, n.s.).

7.3 Discusión

Los resultados del presente experimento sugieren que la orientación de los gazapos hacia el nido se lleva a cabo sin experiencia postnatal este olor. Esto nos muestra que existe una preferencia significativa por la zona de la arena que contiene material del nido. Sin embargo a pesar de que esta preferencia no fue tan marcada como en el Grupo A/Exp y B/Exp del experimento I los cuales tienen experiencia al nido es probable que esta experiencia haya intensificado la respuesta de las crías por el olor del nido. Incluso las crías del Grupo B/Exp, que se retiraron del nido en menos de 30 min después de nacer, muestran una preferencia mas marcada en comparación de las crías del Grupo C/Exp, por lo tanto el aprendizaje postnatal al olor del nido parece ser muy rápido. Esto está relacionado con la literatura que reporta que las crías de conejo son capaces de aprender olores novedosos presentes

en el vientre de la madre en tan solo de 3 a 4 min durante el periodo de amamantamiento (Hudson 1985, Hudson & Distel 1987, Hudson 1993a).

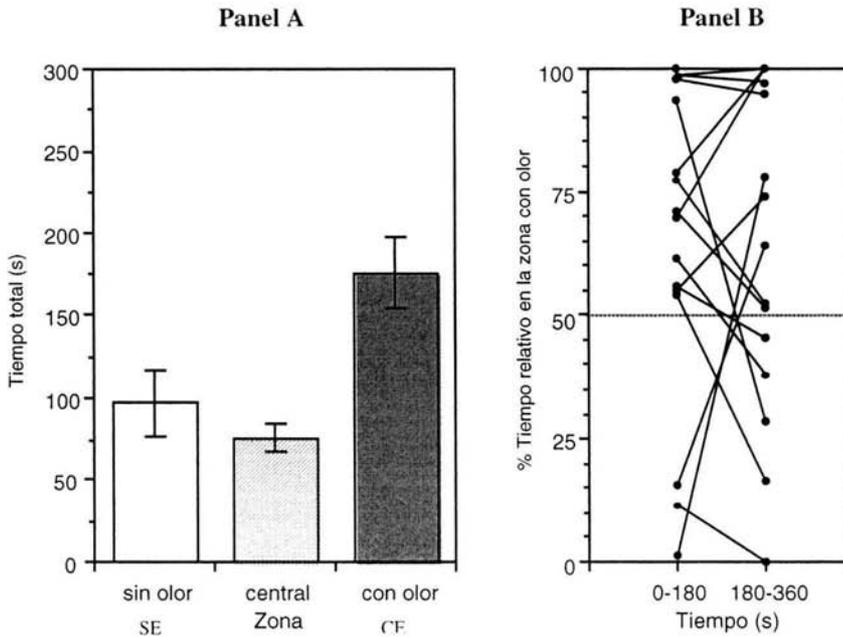


Figura 11 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo C/Exp (n = 16) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia durante un periodo de prueba de 360 seg. Panel B: tiempo que permaneci3 cada gazapo en la zona con olor (material del nido) representado como el porcentaje del tiempo total.

Por otra parte tambi3n es posible que las cr3as del Grupo B/Exp hayan ejecutado mejor la conducta ya que nacieron por parto natural y a que se probaron cuando ten3an tres horas m3s de edad. Para decidir si la experiencia breve al nido de las cr3as del Grupo B/Exp ciertamente contribuye a una mejor ejecuci3n es necesario probar en un grupo sin experiencia, inducir el parto con oxitocina y probar a las cr3as 4 hrs despu3s de nacer.

A pesar de que existe una clara evidencia de que las crías del conejo se pueden orientarse hacia el nido por el olor, no está claro a que componentes del nido responden las crías y cual de ellos puede tener propiedades semejantes a las feromonas a las cuales las crías responden sin experiencia y provocan una respuesta positiva de atracción. Sin embargo desde que se describió en los Antecedentes (2.1.1) el nido maternal es una mezcla compleja mezcla de pasto (o en el laboratorio paja o aserrín), el pelo de la madre, heces y fluidos al nacimiento, la pregunta es a cuales componentes del nido responden las crías en una arena de prueba. El siguiente y último experimento en esta serie fue diseñado para contestar esta pregunta.

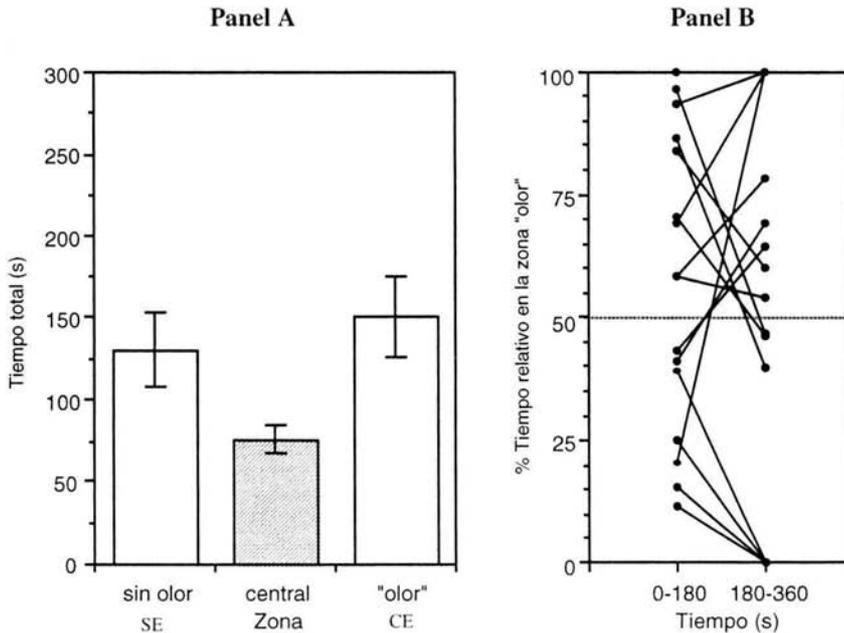


Figura 12 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que pasaron los gazapos del Grupo C/Con ($n = 16$) en las tres zonas de la arena de lugar de permanencia, durante un periodo de prueba de 360 seg. Panel B: Tiempo que permaneció cada cría en la zona de la arena que

corresponde a la zona con olor del Grupo C/Exp (cf. Fig. 11) como un porcentaje del tiempo total que permaneció en las zonas principales de la arena.

8. Experimento IV ¿Qué componentes del nido son atractivos?

En este experimento se probó a que componentes del nido responden las crías en la arena de prueba de lugar de permanencia.

8.1 Métodos

Se utilizaron un total de 64 gazapos (16 x 4 grupos) de 34 camadas diferentes que tenían 4 hrs de edad sin experiencia al nido, estos, se obtuvieron por parto inducido con una inyección de OT . Las crías se mantuvieron hasta 4 hrs en las mismas condiciones que los gazapos del Grupo C.

Posteriormente fueron probados en una arena de lugar de preferencia de la misma forma que en los experimentos anteriores. Las crías se escogieron al azar y posteriormente fueron asignadas a los siguientes grupos: El Grupo D/Pel (n = 16/8 camadas) probadas en la arena con 15 gr de pelo rasurado del vientre de la madre de 1-20 min antes de la prueba distribuidos de forma homogénea en una zona de la arena, el Grupo D/FeH (n = 16/9 camadas) probadas en una arena con 20 heces fecales, que se tomaron de la caja del nido de la madre. Estas fueron distribuidas en 5 hileras de cuatro heces en el lado del estímulo; el Grupo D/FeM (n = 16/8 camadas) probadas en la arena con 20 heces fecales que se tomaron del piso de la jaula de un macho y se distribuyeron en 5 hileras de cuatro heces cada una en la zona del estímulo, el Grupo D/Con (n = 16/9 camadas), grupo control, probado en una segunda arena idéntica pero sin un estímulo experimental.

De la misma forma se llevaron a cabo cada una de las pruebas y se midieron los mismos parámetros conductuales que en los experimentos previos.

8.2 Resultados

Como se muestra en el panel A de la Figura 13, las crías del Grupo D/Pel permanecieron un poco de más tiempo en la zona CE en comparación de la zona SE. En el panel B de la Figura 13 se muestra que 8 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) en la zona CE en ambas mitades de la prueba, 5 crías permanecieron más tiempo en la una zona de la arena durante una mitad de la prueba y en la otra zona durante la otra mitad de la prueba y que solamente 3 crías permanecieron más tiempo en la zona SE durante ambas mitades de la prueba. No obstante, a pesar de la tendencia de los gazapos en permanecer más tiempo en la zona de la arena CE, la distribución de permanencias en las dos zonas de la arena no difirió significativamente (ji-cuadrada = 2.4, df = 2, n.s.).

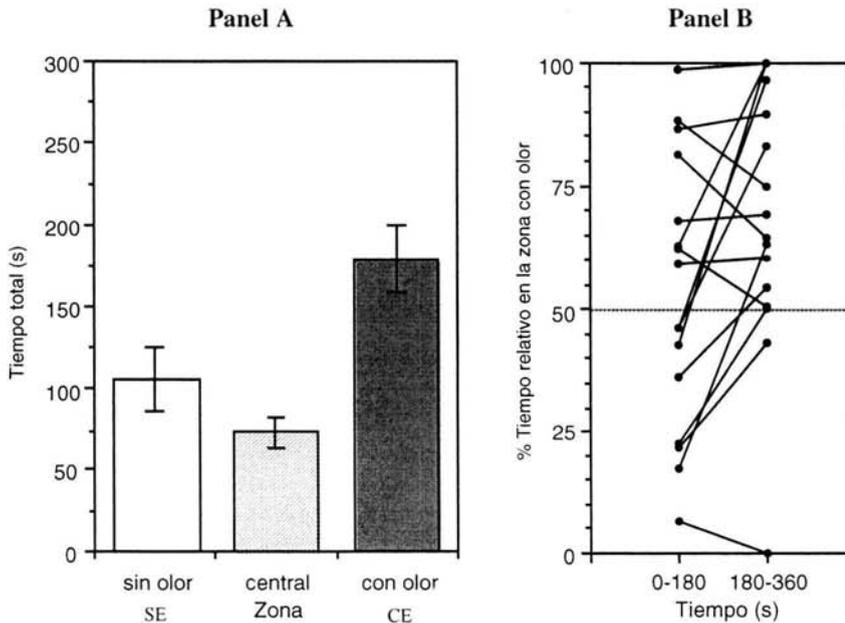


Figura 13 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron las crías del Grupo D/Pel (n = 16) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia durante un periodo de

prueba de 360 seg. Panel B: Tiempo que permaneció cada gazapo durante cada mitad del periodo de prueba en la zona con olor (pelo rasurado del vientre de la madre) como el porcentaje del tiempo total que permaneció en cada uno de estos periodos en las zonas con y sin olor.

De la misma manera se muestra en el panel A de la Figura 14 que las crías del Grupo D/FeH permanecieron un poco más de tiempo en la zona CE que en la zona sin heces. Es más, como se puede ver en el panel derecho de la Figura 14 que 9 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) en la zona SE en ambas mitades de la prueba, 5 crías permanecieron más tiempo en la zona CE durante una mitad de la prueba y en la zona SE durante la otra mitad de la prueba y solamente 2 crías permanecen más tiempo en la zona SE durante ambas mitades de la prueba. Sin embargo, de nuevo, a pesar de la tendencia de las crías a permanecer más tiempo en la zona de la arena CE, esta distribución de permanencia en alguna zona principal de la arena no difirió significativamente ($\chi^2 = 4.6$, $df = 2$, n.s.).

En el panel A de Figura 15 se muestra que las crías del Grupo D/PeM permanecieron cantidades similares de tiempo tanto en la zona CE como en la zona SE.

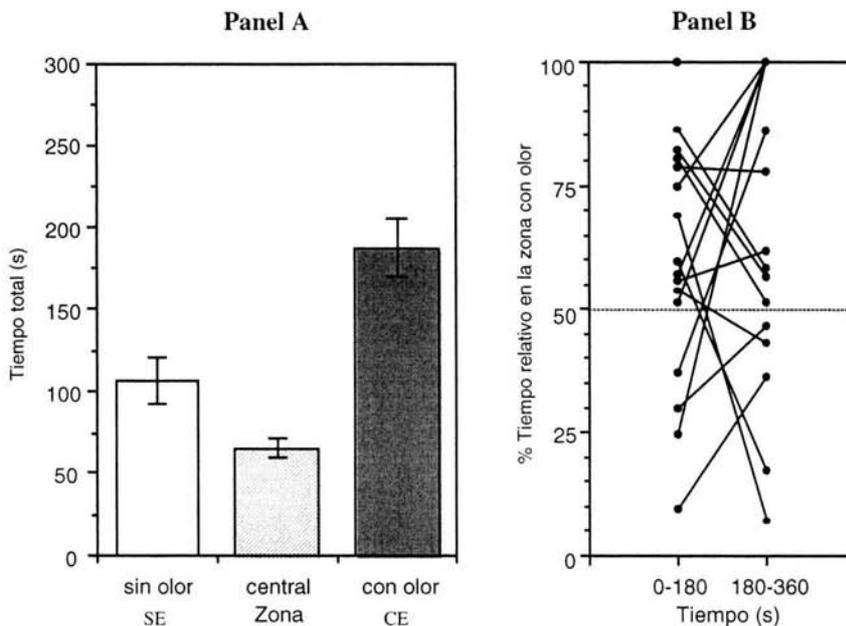


Figura 14 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo D/FeH ($n = 16$) en las tres zonas de la arena de lugar de preferencia durante un periodo de prueba de 360 seg. Panel B: Tiempo que permaneci3 cada cría durante cada mitad del periodo de prueba en la zona con olor (heces de la madre) como un porcentaje del tiempo total que permaneci3 durante cada uno de estos periodos.

Considerando la conducta individual de los animales (Fig. 15, panel B), 7 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) en la zona CE durante ambas mitades de la prueba, 7 crías permanecen más tiempo en una zona durante una mitad de la prueba y en la otra zona durante la otra mitad de la prueba y solamente 2 crías permanecen mas tiempo en la zona SE durante ambas mitades de la prueba. Sin embargo esta distribución de permanencia también no difiere significativamente ($\chi^2 = 2.0$, $df = 2$, n.s.).

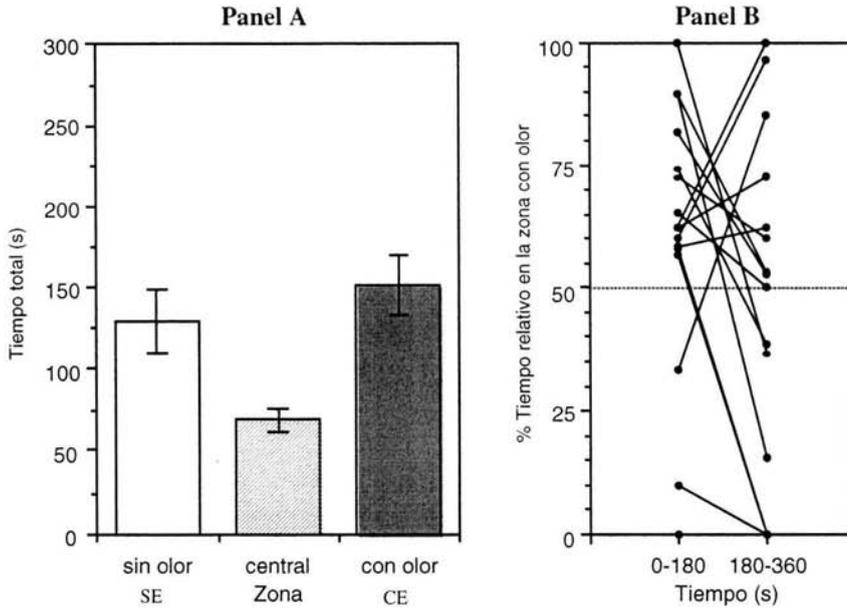


Figura 15 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo D/FeM ($n = 16$) en las tres zonas de la arena de permanencia de lugar en un periodo de prueba de 360 seg. Panel B: Tiempo que permaneció cada gazapo durante cada mitad del periodo de prueba en la zona con olor (heces de un macho adulto) como el porcentaje del tiempo total que permanecieron durante este periodo en la zona con o sin olor.

En el panel izquierdo de la Figura 16 se muestra que las crías del Grupo D/Con permanecieron cantidades de tiempo similares en cualquier zona de la arena. En esta condición ambos lados no tienen estímulo. Una vez más considerando la conducta individual (Fig. 16, panel B), 5 crías permanecieron más tiempo (más del 50%) durante ambas mitades de la prueba en la zona de la arena equivalente a la zona con olor CE para los tres grupos experimentales probados con un estímulo odorante, 6 crías permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de la prueba y en la otra zona durante la otra mitad y 5 crías permanecieron más tiempo durante ambas mitades de la prueba en la zona SE para los tres grupos

experimentales sin estímulo olorosos. Esta distribución de lugar de permanencias en alguna zona principal de la arena no difiere significativamente ($\chi^2 = 0.1$, $df = 2$, n.s.).

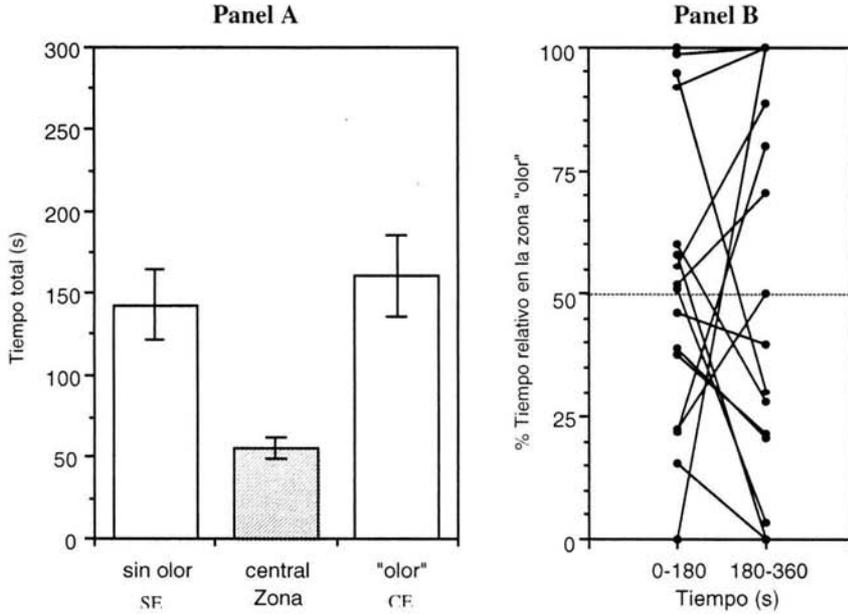


Figura 16 Panel A: Media \pm EE del tiempo total que permanecieron los gazapos del Grupo D/Con ($n = 16$) en las tres zonas de la arena sin estímulo, durante un periodo de prueba de 360 s Panel B: tiempo que permanece cada gazapo durante cada mitad del periodo de prueba en la zona correspondiente a la zona con olor de los Grupos D/Pel, D/FeH y D/FeM (cf. Figs. 13, 14 y 15) como un porcentaje del tiempo total que permanecen las zonas principales de la arena.

8.3 Discusión

Dada la tendencia de los gazapos a orientarse hacia el estímulo de olor de conejo que se utilizó aquí (pelo de la madre, heces de la madre o un macho adulto) y la el número relativamente pequeño de crías en cada condición (16) se llevaron a cabo análisis adicionales combinando los datos de los grupos experimentales. Cuando los datos de los grupos D/Pel y D/FeH (probados con un estímulo normalmente presente en el nido) fueron combinados y se encontró que 17 crías permanecieron más tiempo en la zona CE, 10 crías permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de la prueba y en la otra zona durante la otra mitad de la prueba y solamente 5 crías permanecieron más tiempo en una zona sin olor durante ambas mitades de la prueba. Esta distribución de permanencias en alguna principal de la arena difiere significativamente (ji-cuadrada = 6.8, df = 2, P < 0.05). La significancia fue incrementada más allá cuando los datos de los grupos (D/pel, DfeH y E/FeM) que se probaron con los olores de nido fueron combinados. Por consiguiente 24 crías permanecieron más tiempo en la zona con el estímulo experimental del olor, 17 crías permanecieron más tiempo en una zona durante una mitad de prueba y en la otra zona durante la otra mitad de la prueba y solamente 7 crías permanecieron más tiempo en una zona sin estímulo de olor durante ambas mitades de la prueba. De nuevo esta distribución de preferencias difirió significativamente (ji-cuadrada = 8.4, df = 2, P < 0.05).

Tomando en conjunto los resultados del presente experimento sugieren que las crías perciben y responden de forma positiva a una variedad de fuentes de olor de conejo, como son pelo de la madre, heces de la madre o un macho adulto. Sin embargo una distribución de preferencias de las crías en la arena de prueba no fue significativa para cualquiera de los estímulos al analizarlos individualmente a pesar

de esto al combinar los grupos se encontraron resultados con diferencias significativas. La respuesta más débil de las crías por el estímulo al comparar la respuesta de las crías al material del nido del Experimento I muestra la posibilidad de que el material del nido combina olores de un cierto número de fuentes de olor como son el pelo de la madre, las heces, los líquidos del nacimiento y la orina, esto puede intensificar tanto el tipo de olor como e incrementar la cantidad de información que reciben las crías y tal vez por estas razones las crías responden de diferente forma al olor total del nido o a cualquiera de sus componentes. Sin embargo, los resultados sugieren que los conejos neonatos responden de forma positiva a una variedad de olores de conejo y no necesariamente a aquellos específicos de la madre. Esta observación nos lleva resolver la pregunta a que nivel es la especificidad de las crías al responder al nido.

En cualquier caso los resultados son consistentes con el Experimento III en mostrar que las crías de conejo sin experiencia postnatal al nido pueden responder al olor del nido.

Estos resultados se pueden relacionar a lo que se ha mostrado en la literatura donde reportan que las crías pueden aprender olores in útero originariamente de la dieta de la madre (Bilkó, Altbäcker & Hudson 1994, Coureaud *et al* 2001). También esto podría sugerir que las crías *in utero* se familiaricen a ciertos olores de conejo o simplemente a olores en general. Sin embargo la especificidad de la respuesta de los gazapos a los olores de conejos, queda por ser investigada.

9. ¿Como es que los gazapos logran permanecer por más tiempo en una zona de la arena con olores del nido?

Tomando en conjunto los experimentos previos, estos demuestran que los conejos neonatos pueden localizar el nido usando simplemente claves olfatorias. Sin embargo no es claro cuales estrategias conductuales llevaron a cabo las crías para

presentar esta respuesta. Para investigar como es que la mayoría de los gazapos logran permanecer más tiempo en la zona de la arena con material del nido o sus componentes (pelo de la madre o heces) se analizaron varias medidas conductuales adicionales. Las crías que se utilizaron experimentalmente fueron 80 crías de 5 grupos diferentes que se expusieron a diferentes estímulos como son material del nido completo, pelo o heces de la madre y por otra parte se utilizaron 64 crías de 4 grupos diferentes en las condiciones control.

Las categorías que se utilizaron fueron las siguientes:

- 1) **Olor 1:** Animales experimentales que permanecen más tiempo en la zona con olor en comparación de la zona sin olor (n = 61).
- 2) **Olor 2:** Animales experimentales que permanecen más tiempo en la zona sin olor en comparación de la zona con olor (n = 19).
- 3) **Control 1:** Animales control que permanecen más tiempo en la zona equivalente al “olor” en comparación a la zona sin olor (n = 33).
- 4) **Control 2:** Animales control que permanecen más tiempo en la zona sin olor en comparación a la zona con “olor” (n = 31).

La Figura 17 muestra la media del tiempo total que pasan los gazapos en cualquiera de estas cuatro categorías en cualquiera zonas de la arena. Las crías de las cuatro categorías permanecen un promedio de 181-223 s en una de las dos zonas externas de la arena (SE o CE), un promedio de 65-95 s en la zona opuesta de la arena y alrededor del mismo tiempo en la zona central mas pequeña.

Una prueba no paramétrica de ANOVA Kruskal-Wallis al comparar el tiempo total que las crías de las cuatro categorías permanecen una zona preferencial, muestra que hay diferencias significativas ($H = 10.7$, $df = 3$, $P < 0.02$). Las pruebas Post hoc Mann-Whitney U muestran que las crías permanecen significativamente mayor tiempo en el Olor 1 de este grupo al preferir la zona CE vs el tiempo que

permanecen en el Olor 2 donde prefieren la zona sin olor ($U = 326$, $n_1 = 61$, $n_2 = 19$, $P < 0.005$) y las crías del grupo Olor 2 permanecen un tiempo significativamente mas corto al comparar la zona sin olor contra el tiempo que permanecen las crías del grupo Control 2 en la zona sin olor ($U = 142$, $n_1 = 31$, $n_2 = 19$, $P = < 0.005$). Por consiguiente en general hubo una tendencia de las crías en permanecer de alguna forma más tiempo en la zona con olor del nido en comparación a la zona sin olor sin que sin importar si la zona del olor fue su zona preferida o no.

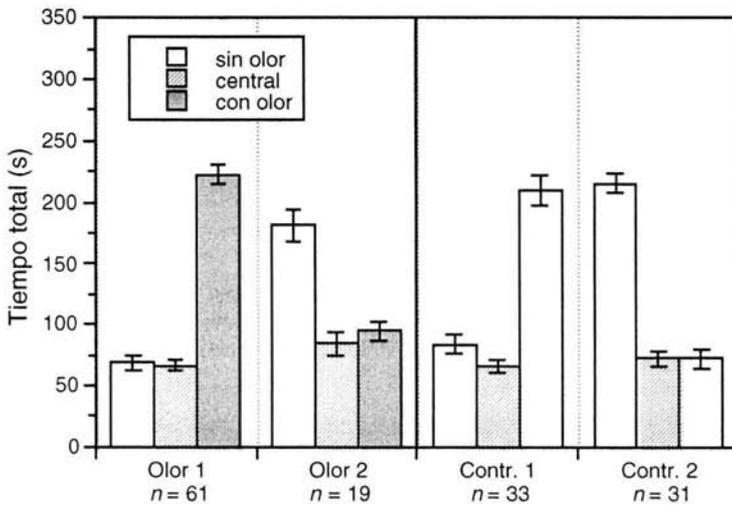


Figura 17 Media \pm SEM del tiempo total que permanecen los gazapos de las cuatro categorías (definidas de acuerdo a su lugar de preferencia; ver texto) en cada zona de la arena de prueba.

Regresando a la pregunta de como la mayoría de los gazapos que se probaron con olor del nido permanecen la mayoría del tiempo en la zona con estímulo, fueron analizados: el lugar al cual las crías regresan por primera vez al dejan la zona central, esto es, hacia la zona con olor, (o en el caso del grupo control el equivalente a la zona “con olor”) o hacia la zona sin olor, para obtener esta medida se tomó el

tiempo que tardan los gazapos en entrar por primera vez a cualquier zona de la arena y al entrar a dicha zona esta adquiere la categoría de zona preferida y por otra parte se midió el número total de cruces que llevan a cabo las crías en la zona con olor (o en el caso del grupo control en la zona equivalente a la zona "con olor") o en la zona sin olor.

Primera elección

En general 40 de las 80 crías experimental (50%) entran a la zona con olor por primera vez y 39 a la zona sin olor. Estos números casi iguales sugieren que las crías experimentales no muestran preferencia por alguna zona de la arena. Lo mismo sucedió en las crías control, 33 (52%) las cuales entran a la zona con olor por primera vez y solo 31 entran por primera vez a la zona sin olor.

Esto fue corroborado por un análisis del número de crías de cualquiera de las cuatro categorías que entran primero a cualquier zona la cuál al entrar la cría en dicha zona, esta se convertía en la zona preferida. Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: Para el grupo Olor 1 28 crías (46%) prefieren la zona con olor, el grupo Olor 2 12 crías (63%) prefieren la zona sin olor, el grupo Control 1 16 crías (48%) prefieren la zona equivalente al "olor" y el grupo Control 2 17 crías (55%) prefiere la zona sin olor. Por consiguiente, no hubo evidencia de que los gazapos que se probaron con el estímulo del material del nido utilizaran este olor para orientarse hacia la zona de la arena CE y por lo tanto no hubo evidencia del efecto a largo alcance de los olores que atraen a las crías hacia la zona CE que provoca que las crías permanezcan mas tiempo en esta zona. Aparentemente la falla para responder a los olores del nido a cierta distancia, no parece simplemente deberse a la escasa habilidad motora y se observa que los gazapos que tenían edades de 1 - 8 h respectivamente presentaron una alta actividad motora y al medirla se obtuvo un promedio de solamente $9.6 \text{ s} \pm 0.7 \text{ SEM}$ para dejar la zona de inicio, para el grupo Olor se obtuvo un promedio de $19.6 \text{ s} \pm 1.1 \text{ SEM}$, para el grupo Olor 2 un promedio

de $14.0 \text{ s} \pm 2.2 \text{ SEM}$, , para el grupo Control 1 un promedio de $9.6 \text{ s} \pm 1.3 \text{ SEM}$ y para el grupo Control 2 un promedio de $6.8 \pm 1.0 \text{ SEM}$. Una prueba Kruskal-Wallis ANOVA muestra que no hay diferencias significativas entre los grupos en estas medidas ($H = 7.0$, $df 3$, $P = 0.07$).

Latencia

La Figura 18 muestra las latencias de las crías al dejar la zona central y entrar a una de las zonas SE o CE por primera vez. No hubo evidencia de que las crías del Olor 1 y Olor 2 fueran más rápidas al entrar a la zona CE en comparación al entrar a la zona SE. De hecho, la tendencia fue la reversa. Un análisis de las latencias a entrar a una zona preferida por primera vez, da los siguientes resultados: las crías del Olor 1 ($n = 28$) tienen un promedio de $11.0 \text{ s} \pm 1.7 \text{ SEM}$ al entrar por primera vez preferentemente a la zona con olor, las crías del Olor 2 ($n = 7$) tienen un promedio de $15.7 \text{ s} \pm 4.2 \text{ SEM}$ al entrar por primera vez preferente a la zona sin olor, las crías del Control 1 ($n = 16$) toman un promedio de $8.4 \text{ s} \pm 1.6 \text{ SEM}$ para entrar pro primera vez preferentemente a la zona equivalente al "olor" y crías del Control 2 ($n = 14$) toman un promedio de $6.1 \text{ s} \pm 0.9 \text{ SEM}$ para entrar por primera vez preferentemente a la zona sin olor.

Una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ANOVA muestra que no hay diferencia significativa entre los diferentes grupos del tiempo que se tarda cada gazapo en entrar por primera vez a una zona preferida ($H = 5.7$, $df 3$, $P = 0.12$). De este modo una vez mas no hubo evidencia experimental de que las crías usen el estímulo de olor del nido para orientarse a distancia hacia la zona CE y por consiguiente las latencias mas cortas para entrar a la zona del olor pueden explicar el porque la mayoría de las crías experimentales pasan mas tiempo ahí.

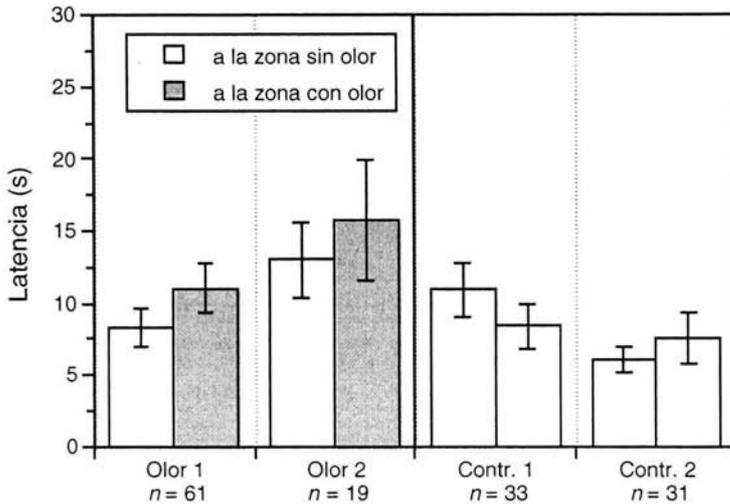


Figura 18 Media \pm SEM del tiempo que toman los gazapos de las cuatro categorías para entrar por primera vez a cualquier zona de la arena.

Actividad locomotora

Finalmente para examinar si la gran cantidad de tiempo que permanecen las crías experimentales en la zona CE puede deberse a la lenta difusión del olor o al movimiento de las crías se midió el número de veces que las crías cruzan los límites de los cuadrantes que dividen cada zona (SE y/o CE) en cuatro partes (Fig. 3) y estas medidas se tomaron como un indicador de actividad locomotora.

Para cada grupo se midió el número total de cruces en ambas zonas SE y CE durante todo el periodo de prueba fue: Olor 1, 25.8 ± 1.9 SEM, Olor 2, 29.9 ± 3.6 SEM, Control 1, 29.3 ± 2.5 SEM y Control 2, 27.6 ± 2.0 SEM. Una prueba ANOVA Kruskal-Wallis muestra que no hay diferencias significativas en el número de cruces entre los grupos ($H = 1.2$, $df 3$, $P = 0.76$), indicando que las crías de los cuatro grupos fueron igualmente activas.

En un posterior análisis se midió el intervalo promedio al cual las crías de cada grupo cruzan los límites del cuadrante en cada zona y este fue calculado por la división del tiempo total que permanece cada gazapo en una de estas zonas entre el número total de cruces. La figura 19 muestra que a pesar de que los intervalos de entrecruzamiento fueron mas cortos para todos los grupos en la zona no preferente (indicando relativamente una alta actividad locomotora) en comparación del lado preferente al hacer el análisis estadístico no se hubo diferencias significativas en la tasa de cruce entre los grupos del lado preferencial (Kruskal-Wallis ANOVA; $H = 0.9$, $df\ 3$, $P = 0.98$). Por consiguiente no hubo evidencia de que la mayoría de las crías experimentales permanecieran mas tiempo en la zona con olor debido a un efecto del olor en la disminución de la locomoción pudiéndoles brindar a los gazapos que un descanso y así hacer mas lenta la locomoción en la zona con olor.

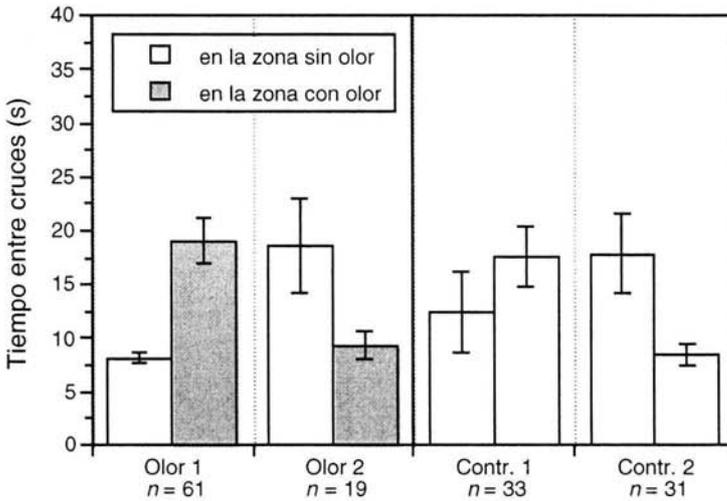


Figura 19 Media \pm SEM del tiempo que toman los gazapos de las cuatro categorías en cruzar los límites de los cuadrantes que dividen a cada lado de las zonas de la arena.

En conclusión, todavía no está claro de que forma el olor del nido afecta la conducta de los gazapos experimentales al permanecen permanecer la mayoría mas tiempo en la zona de la arena con olor. Se propone que se lleve a cabo un estudio posterior para analizar la locomoción de las crías utilizando una gradilla mas fina que los cuatro cuadrantes en cada lado. Esto permitirá revelar las diferencias en la conducta de las crías. Este análisis que requiere de gran cantidad de tiempo se planea para un futuro.

10. Discusión general

La mayoría de los objetivos planteados en este trabajo se cumplieron, se logró elaborar un aparato experimental adecuado para medir la conducta de los gazapos al día 0 (día de nacimiento) ante la presencia de diversos olores.

La metodología desarrollada en este trabajo fue adecuada para confirmar la gran capacidad de las crías de conejo para responder a olores tanto familiares como novedosos, las consideraciones básicas que se tomaron en cuenta fueron: voltear la arena de prueba 180° después de cada ensayo, lavar la arena, alternar forma en que se le presentaba el estímulo de olor a cada gazapo, también se tomó la temperatura de la arena de prueba y se obtuvo que no variaba más de 0.5 C al comparar la zona con estímulo (olor al nido o sus componentes o un olor novedoso) vs la zona sin estímulo también se utilizaron dos arenas idénticas una arena para la condición control y otra para la condición experimental para evitar la contaminación, también las crías no tenían contacto con el material del nido (utilizado como estímulo). Las características de la arena de prueba nos confirman que es muy probable que las crías se guían principalmente por el olor a la zona de la arena con estímulo.

En particular la respuesta de las crías a olores asociados al contexto de alimentación o el nido ha sido estudiado en varias especies (Heth *et al* 2002, Hudson & Distel 1983) el presente trabajo es consistente con estos estudios ya que es

sorprendentemente encontré que gazapos sin experiencia postnatal al nido permanecen más tiempo en la zona con olor y estos resultados se repitieron para todos los grupos experimentales ante la presencia del olor del material del nido e incluso al hacer un análisis de la conducta que se presenta en la primera y segunda mitad de la prueba se obtuvo que las crías ante la presencia del olor del nido se mantienen la zona con olor por una mayor cantidad de lapsos de tiempo y que incluso no cambian tan frecuentemente de zona como sucede en la condición control. Por otra parte se encontró que la respuesta de las crías al olor del nido es específica ya que se comprobó al llevar a cabo pruebas con olores novedosos donde se encontró que las crías respondían de forma similar a los grupos controles ante la presencia de estos estímulos. También se encontró que existe una tendencia de las crías de ser atraídas por los componentes del nido como son el pelo y la heces de la madre pero no lo refleja así el análisis estadístico ya que no hay diferencias significativas en la respuesta de las crías ante la presencia de cualquiera de los componentes del nido.

Sin embargo en un análisis como es el de la primera elección se encontró que la preferencia de las crías al entrar por primera vez a cualquier zona de la arena se da al azar e inclusive se midieron parámetros como son la actividad locomotora y no se encontraron diferencias significativas entre las dos zonas principales de la arena CE o SE.

La forma de como es que responden las crías al olor del nido queda por investigarse también si es a un solo compuesto o varios los que atraen a los gazapos. Para ello se propone que se lleven a cabo análisis mas finos para poder analizar cual es el patrón conductual que siguen las crías al ser atraídas al olor del nido.

La respuesta de las crías al olor del nido da indicio de que pueden responder a una amplia gama de olores lo cual indica que tienen una gran capacidad adaptativa para responder a los estímulos en su vida temprana sobretodo en esta especie donde la madre solo pasa un periodo tan corto de 3-5 min cada 24 h con la camada.

Por otra parte es evidente en este trabajo que el nido debe de ser un medio que favorezca el aprendizaje temprano de forma muy rápida e inclusive este aprendizaje puede iniciarse desde una etapa prenatal y es posible que las crías aprendan o se hagan familiares a los componentes del olor del nido *in utero*. Las crías de ratas, ovejas o humanos pueden aprender olores de forma prenatal, por ejemplo de la dieta de la madre y esto se ha llevado a cabo en una prueba de lugar de preferencia inmediatamente después de nacer (Semke *et al* 1995, Coureaud *et al* 2001) a la cuál las crías responden positivamente; en este contexto la respuesta al nido se puede deber a que las crías reconocen algunos de los componentes presentes en el olor del nido a los cuales estuvieron expuestos *in utero* (como ejemplo tenemos el líquido amniótico). También existe un posible significado adaptativo de un aprendizaje temprano prenatal el cuál provee una continuidad sensorial entre el ambiente pre y post natal donde la madre es una fuente de información confiable y muy importante.

También sería interesante averiguar el umbral de detección de los gazapos ante diferentes concentraciones del estímulo, ya que a pesar de que se mantuvo constante la cantidad del material del nido no se controló la intensidad del estímulo ya que realmente no se sabe que tanto varía el olor del nido de una madre o camada a otra.

Por otra parte en el caso de los olores novedosos que se utilizaron en este trabajo solamente se tiene evidencia para el Chanel N° 5 de que las crías pueden percibir este olor (Hudson 1985) en cantidades mas bajas que lo que se utilizó en este estudio por lo tanto con esta prueba podemos afirmar que la permanencia de las crías en la zona CE en una arena de prueba es específica al olor del nido ya que a pesar de que perciben el olor a Chanel N°5 no responden a este olor.

El otro estímulo novedoso fue el olor a naranja del cuál no sabe si las crías pueden percibir dicho olor sin embargo se tiene evidencia de que las crías pueden aprender olores como son el citral, aceite de alcanfor y jugo de ajo (Hudson 1985, Hudson & Distel 1986, 1987, Alligham *et al* 1999). Por esta razón se piensa que las

crías también pueden aprender a reconocer el olor de naranja desde una etapa prenatal y para ello se propone que llevar a cabo una serie de experimentos para comprobar el aprendizaje pre y postnatal.

También se puede pensar que la respuesta al olor del nido puede estar predeterminada genéticamente parecida a la de una feromona.

Un dato importante para este estudio es que la habilidad locomotora de los gazapos está muy desarrollada en comparación con otros mamíferos altriciales como son los ratones (Ogilvie & Stinson 1966). Es posible que esta gran habilidad motora haya surgido para compensar algunas situaciones durante las madres no están presentes en el nido durante prologados periodos de tiempo y en este caso las crías tengan que desplazarse hacia cierta zona del nido, esto se puede ver en los jerbos (Kaplan & Hyland 1972) y en conejos (Hudson & Distel 1982). Esta habilidad motora tan desarrollada en los gazapos nos permite llevar a cabo diversas pruebas conductuales ante la presencia de un estímulo.

Será interesante llevar a cabo un análisis mas fino de los datos en términos sensorimotores específicos, para entender cómo es que las crías permanecen mayor cantidad de tiempo en la zona con el olor; una forma de análisis puede ser el que se ha llevado a cabo previamente relacionado a la orientación de las crías en un gradiente térmico (Pacheco-Cobos *et al* 2003).

11. Conclusiones

- ⇒ Las crías perciben el olor del nido.
- ⇒ Responden a el inmediatamente después de nacer y no necesitan experiencia previa para preferir dicho olor.
- ⇒ La respuesta al olor del nido es específica.
- ⇒ Se requiere de un análisis fino para las conductas que llevan a cabo las crías para ir hacia el nido y preferir la zona con olor.

12. Bibliografía

- Adler J (1987) How motile bacteria are attracted and repelled by chemicals: an approach to neurobiology. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 368: 163-173
- Agosta WC (1992) Chemical Communication: The Language of Pheromones. Scientific American Library, New York
- Alberts JR (1976) Olfactory contribution to behavioral development in rodents. En: Doty R (ed) Mammalian Olfaction, Reproductive Processes and Behavior. Academic Press, New York
- Allingham K, Brennan PA, Distel H, Hudson R (1999) Expression of c-Fos in the main olfactory bulb of neonatal rabbits in response to garlic as a novel and conditioned odour. *Behav Brain Res* 104: 157-167
- Altbäcker V, Hudson R, Bilkó A (1995) Rabbit-mothers' diet influences pups' Later Food Choice. *Ethology* 99: 107-116
- Bell DJ (1980) Social olfaction in lagomorphs *Symp Zool Soc Lond* 45: 141-164
- Bell DJ (1985) The rabbits and hares: order lagomorpha En: Brown RE y MacDonald DW (eds) Social Odors in Mammals. Claredon, Oxford, pp 507-530
- Bilkó Á, Altbäcker V, Hudson R (1994) Transmisión of food preference in the rabbit: the means of information transfer. *Physiol Behav* 5: 907-912
- Bolles RC, Woods J (1964) The ontogeny of behavior in the albino rat. *Anim Behav* 12: 427-441
- Breen NF, Leshner AI (1977) Maternal pheromone: a demonstration of its existence in the mouse (*Mus musculus*). *Physiol Behav* 18: 527-29
- Butenandt A, Beckman R, Hecker E (1961) On the sex attractant of silkworms. I. The biological test and the isolation of the pure sex-attractant bombykol
Hoppe Seylers Z Physiol Chem 324:71-83

- Corby JR, Caza PA, Spear NE (1982) Ontogenetic changes in the effectiveness of home nest odor as a conditioned stimulus. *Behav Neural Biol* 35: 354-367
- Coureaud G, Schaal B, Langois D, Perrier G (2001) Orientation response of newborn rabbits to odours of lactating females: relative effectiveness of surface and milk cues *Anim Behav* 61: 153-162
- Coureaud G, Schaal B, Hudson R, Orgeur P, Coudert P. . (2002) Transnatal olfactory continuity in the rabbit: behavioral evidence and short-term consequence of its disruption. *Dev Psychobiol.* 40: 372-90.
- Devor M, Schneider GE (1974) Attraction to home-cage odor in hamster. *Behav Biol* 10: 211-221
- Distel H, Hudson R (1985) The contribution of the olfactory and tactile modalities to the nipple-search behaviour of newborn rabbits. *J Comp Physiol* 157: 599-605
- Drickamer LC (1999) Sexual attractants. En: Knobil E y Neil JD (eds) *Encyclopedia of Reproduction.* vol. 4, Academic Press, San Diego, pp 444-448
- Drummond H, Vázquez E, Sánchez-Colón S, Martínez-Gómez M, Hudson R (2000) Competition for milk in the domestic rabbit: survivors benefit from littermate deaths. *Ethology* 106: 511-526
- Frisch K v (1941) Über einen Schreckstoff der Fischhaut und seine biologische Bedeutung. *Z. Vergleich Physiol* 29: 46-145
- Fuchs AR, Dawood MY (1980) Oxytocin release and uterine activation during parturition in rabbits. *Endocrinology* 107 1117-1126
- González-Mariscal G, Díaz- Sanchez V, Melo AI, Beyer C Rosenblatt JS (1994a) Maternal behavior in New Zeland white rabbits: quantification of somatic events motor patterns, and steroid plasma levels. *Physiol Behav* 55: 1081-1089
- González-Mariscal G, Melo AI, Jimenez P, Beyer C Rosenblatt JS (1994b) Estradiol, progesterone, and prolactin regulate maternal nest-building in rabbits. *J Neuroendocrinol.* 8:901-907.

- González-Mariscal G, Cuamatzi E, Rosenblatt JS (1998a) Hormones and external factors: are the “on/off” signals for maternal nest building in rabbits? *Horm Behav* 33: 1-8
- González-Mariscal G, Melo AI, Chirino R, Jimenez P, Beyer C, Rosenblatt JS (1998) Importance of mother/young contact at parturition and across lactation for the expression of maternal behavior in rabbits. *Dev Psychobiol* 32:101-111
- Gregory EH, Pfaff DW (1971) Development of olfactory-guided behavior in infant rats. *Physiol Behav* 6: 573-576
- Hart BL (1985) *The Behavior of Domestic Animals* WH Freeman and Co, New York, pp 42-52, 88-94
- Heth G, Todrank J, Begall S, Koch R, Zilbiger Y, Nevo E, Braude SH Burda H (2002) Odors underground: subterranean rodents may not forage “blindly” *Behav Ecol Sociobiol* 52: 53-58
- Hölldobler B, Wilson EO (1977) Colony-specific territorial pheromone in the African weaver ant *Oecophyla longinoda* (Lateille). *Proc Natl Acad Sci* 74: 2072-2075
- Hudson R (1985) Do newborn rabbits learn the odor stimuli releasing nipple-search behavior? *Dev Psychobiol* 18: 575-585
- Hudson R (1993a) Rapid odor learning in newborn rabbits: Connecting sensory input to motor output *German J Psychol* 17: 267-275
- Hudson R (1993b) Olfactory imprinting *Current Opinion Neurobiol* 3: 548-552
- Hudson R (1999) From molecule to mind: the role of experience in shaping olfaction function. *J Com Physiol* 5: 297-304
- Hudson R, Distel H (1982) The pattern of behaviour of rabbit pups in the nest. *Behaviour* 70: 256-271
- Hudson R, Distel H (1983) Nipple location by newborn rabbits: behavioural evidence for pheromonal guidance. *Behaviour* 85: 260-275
- Hudson R, Distel H (1989) The temporal pattern of suckling in rabbit pups: A model of circadian synchrony between mother and young En: Reppert SM

(ed) Development of Circadian Rhythmicity and Photoperiodism in Mammals Perinatology Press, Boston, pp 83-102

- Hudson R, González-Mariscal G, Beyer C (1990) Chin-marking behavior, sexual receptivity, and pheromone emission in steroid-treated, ovariectomized rabbits *Horm Behav* 24: 1-13
- Hudson R, Distel H (1995) On the nature and action of the rabbit nipple-search pheromone: review En: Apfelbach R, Müller-Schwarze D (eds) Chemical Signals in Vertebrates VII Advances in the Biosciences Vol 93 Elsevier Science, Oxford, pp 223- 232
- Hudson R, Bilkó Á, Altbäcker V (1996) Nursing, weaning and the development of independent feeding in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) *Z Säugetierkunde* 61: 39-48
- Hudson R, Distel H (1998) The female rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) as a model for the study of mammalian reproductive processes. En: Martínez-Gómez M y Velásquez-Moctezuma J (coords), Bases Neurobiológicas y Ecológicas de la Conducta UAT, UAM, UV, UNAM, México, pp 1-14
- Hudson R, Distel H (1999) The flavor of life: perinatal development of odor and taste preferences. *Schweiz Med Wochenschr* 129: 176-181
- Hudson R, Cruz Y, Lucio RA, Ninomiya J & Martínez-Gómez M (1999) Temporal and behavioral patterning of parturition in rabbits and rats. *Physiol Behav* 66: 599-604
- Hudson R, Labra-Cardero D, Mendoza-Soylovna A (2002) Sucking, not milk, is important for the rapid learning of nipple-search odors in the newborn rabbit *Dev Psychobiol* 41: 226-235
- Jilge B, Hudson R (2001) Diversity and development of circadian rhythms in the European rabbit *Chronobiol Int* 18: 1-26
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM (2001) Olfato y gusto: los sentidos químicos. En: Principios de Neurociencia 4ta ed, Interamericana. Madrid pp 625-636
- Kaplan J & Hyland (1972) Behavioral development in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) *Anim Behav* 20: 147-154

- Karlson P, Luscher M (1959) Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 55-56.
- Kindermann U, Hudson R, Distel H (1994) Learning of suckling odors by newborn rabbits declines with age and suckling experience. *Dev Psychobiol* 27: 111-122
- Kleene SJ (1986) Bacterial chemotaxis and vertebrate olfaction. *Experientia* 42: 241-250
- Kovach JK, Kling A (1967) Mechanisms of neonate sucking behaviour in the kitten. *Anim Behav* 15: 90-101
- Leon M, Moltz H (1971) Maternal pheromone: discrimination by preweanling albino rats. *Physiol Behav* 7: 265-267
- Marr JN, Lilliston LG (1970) Social attachment in rats by odour and age. *Behavior* 33: 277-282
- Martín P, Bateson P (1993) *Measuring Behaviour: An Introductory Guide*. 2nd ed, Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra.
- Martínez-Gomez M, Cruz Gómez Y, Lucio Lucio RA, Hudson Thompson R (2002) Conducta maternal. En: Escobar Briones C, Aguilar Roblero RA (eds) *Motivación y Conducta: Sus Bases Biológicas Editorial El Manual Moderno México, D.F.* pp 299-307.
- Mason MD (1990) Introduction to bacterial motility and chemotaxis. *J Chem Ecol* 16: 107-113
- Mora-Novaro OA, Sánchez-Criado JE (1992) Fisiología del olfato. En: Tresguerres JAF (ed) *Fisiología Humana*. Interamericana, Madrid, pp 328-340
- Morrow-Tesch J, McGlone JJ (1990) Sources of maternal odors and the development of odor preferences in baby pigs. *J Anim Sci* 68: 3563-71
- Mykytowycz R (1968) Territorial marking by rabbits. *Scic Amer* 218: 116-126
- Mykytowycz R (1970) The role of skin glands in mammalian communication. En: Johnson JW, Moulton DG y Turk A (eds) *Advances in*

Chemoreception. I. Communication by Chemical Senses. Appleton-Century-Crofts, New York pp 327-360

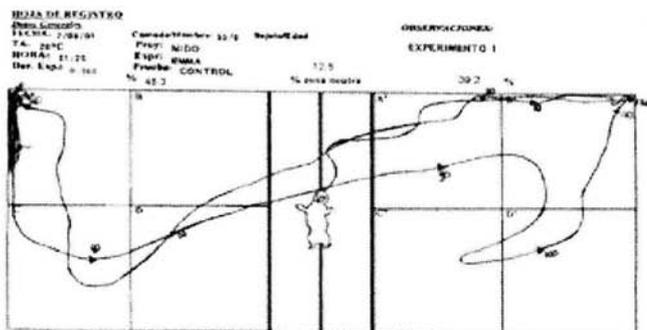
- Mykytowycz R, Goodrich BS, Hesterman ER (1984) Methodology employed in the studies of odour signals in wild rabbits, Oryctolagus cuniculus. *Acta Zool Fennica* 171: 71-75
- Nyakas C, Endoczi E (1970) Olfaction guides approaching behavior of infantile rats to the mother in a maze box. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 41: 163-173
- Ogile D, Stinson R (1966) The effect of age on temperature selection by laboratory mice (*Mus musculus*). *Can J Zool* 44: 511: 517
- Pedersen PE, Blass EM (1982) Prenatal and postnatal determinants of the 1st suckling episode in the albino rat. *Dev Psychobiol* 15: 349-356
- Rosenblatt JS (1971) Sucking and home orientation in the kitten. A comparative developmental study. En: Tobach E, Aronson LR, Shaw E (eds) *The Biopsychology of Development*, Academic Press, New York pp 345-410
- Rosenblatt JS (1972) Learning in newborn kittens. *Sci Amer* 227: 18-28
- Rosenblatt JS (1983) Olfaction mediates developmental transition in the altricial newborn of selected species of mammals. *Dev Psychobiol* 16(5):347-375
- Schaal B, Marlier L, Soussignan R (1995) Responsiveness to the odour of amniotic fluid in the human neonate. *Biol Neonate* 67: 397-406.
- Schaal B, Marlier L, Soussignan R (2000) Human foetuses learn odours from their pregnant mother's diet. *Chem Senses* 25: 729-737
- Schapiro S, Salas M (1970) Brief communication: Behavioral response of infant rats to maternal odor. *Physiol Behav* 5: 815-817
- Schley P (1977) The elimination of the sense of smell and its effect on the sucking behaviour in young rabbits *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 90: 382-385
- Semke E, Distel H, Hudson R (1995) Specific enhancement of olfactory receptor sensitivity associated with foetal learning of food odors in the rabbit *Naturwissenschaften* 82: 148-149

- Serby MJ, Chobor KI (1992) *Science of Olfaction*. Springer-Verlag, New York
- Sherman PW, Hudson KR, Pfennig DW (1998) *Recognition Systems* En: (ed) Krebs JR, Davies NB *Behavioral Ecology*, Blackwell Science, Cambridge pp 74
- Shipley MT, Mclean JH, Ennis M (1995) Olfactory system. En: Paxinos G (ed) *The Rat Nervous System*. Academic Press, New York pp 899-921
- Smotherman WP, Robinson SR (1985) The rat fetus in its environment: behavioral adjustments to novel, familiar, aversive, and conditioned stimuli presented in utero *Behav Neurosci* 99: 521-530
- Smotherman WP, Robinson SR (1990) Olfactory bulb transection alters fetal behavior after chemosensory but not tactile stimulation *Dev Brain Res* 57(2): 175-180
- Smotherman WP, Robinson SR (1991a) Conditioned activation of fetal behavior *Physiol Behav* 50: 73-77
- Smotherman WP, Robinson SR, Ronca AE, Alberts JR, Hepper PG (1991b) Heart rate response of the rat fetus and neonate to a chemosensory stimulus *Physiol Behav* 50: 47-52
- Stoddart MD (1976) *Mammalian Odours and Pheromones*. Edward Arnold, London pp 1-58
- Tobach R, Rouger Y, Schneirla TC (1967) Development of olfactory function in the rat pup. *Ann NY Acad Sci* 290: 226-269
- Vandenberg JG (1983) *Pheromones and Reproduction in Mammals*. Academic Press, New York
- Van Houten J, Preston RR (1987) Chemoreception in single-celled organisms. En: Finger TE y Silver WL (eds) *Neurobiology of Taste and Smell* Wiley, New York, pp 11-38
- Wilson EO (1975) *Sociobiology: The New Synthesis*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge MA, pp 256-278

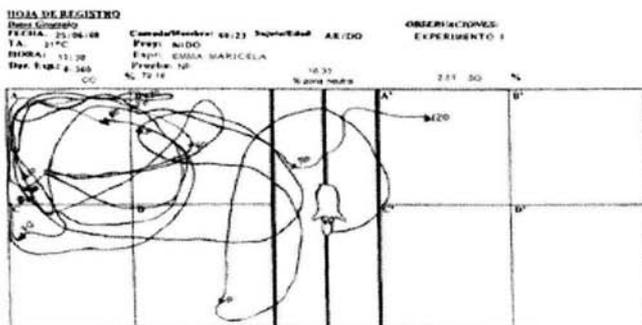
13. Anexo

Trayectorias características de los gazapos en diversas pruebas

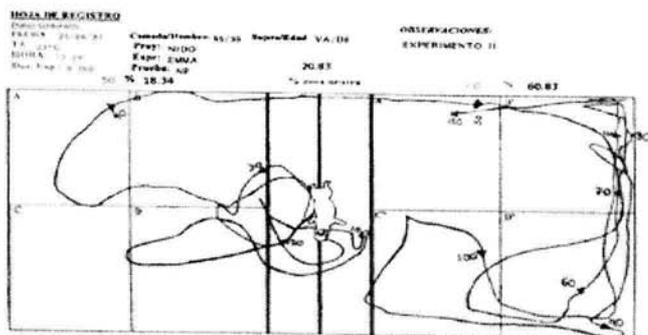
Prueba control del Grupo A (4-8 h de experiencia al nido)



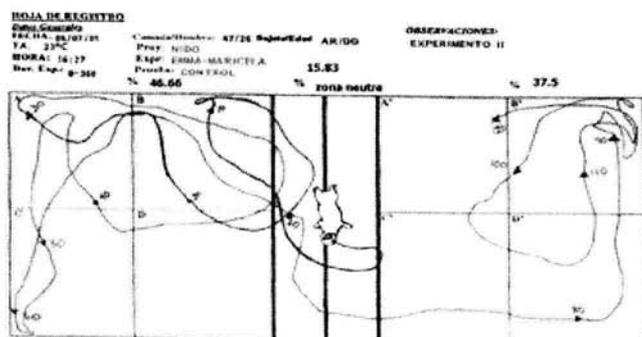
Prueba experimental del Grupo A (4-8 h de experiencia al nido)



Prueba Experimental Grupo B (0-30 min) de experiencia al nido



Prueba experimental del grupo A (estímulo material del nido)



Prueba experimental del grupo A (estímulo naranja)

