

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**EFFECTO DE LAS SECRECIONES VAGINALES DEL CICLO MENSTRUAL DE
Macaca arctoides SOBRE LA FISIOLÓGÍA Y CONDUCTA DE LOS MACHOS:
POSIBLE ACCION DE FEROMONAS**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
DOCTORA EN CIENCIAS
PRESENTA**

ANA LILIA CERDA MOLINA

Comité Tutorial: Dr. Francisco Pellicer Graham
Dr. Vicente Díaz Sánchez
Dra. Esther Cruz Beltrán

ENERO 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ÍNDICE

RESUMEN	3
MARCO TEÓRICO	4
1 Interacciones socio-sexuales entre los primates	4
2. Competencia y sistemas de apareamiento en primates	5
3. Cópulas forzadas en primates	6
4. Rangos de dominancia y supresión reproductiva	7
5. El ciclo estral y menstrual	8
6. Señalización del estado reproductivo de las hembras	10
6.1 Señalización visual, conductual y acústica	11
7. Señalización química	13
7.1 Feromonas en mamíferos	14
7.2 El sistema olfatorio	17
7.3 Feromonas en primates	18
8. El sistema reproductivo y la conducta sexual en <i>Macaca arctoides</i>	21
8.1 Organización social	21
8.2 Características reproductivas de la hembra	21
8.3 Conducta copulatoria	22
8.4 Relación conducta sexual-ciclo menstrual	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
HIPÓTESIS	25
OBJETIVOS	26
EXPERIMENTO 1. Efecto de las secreciones vaginales producidas durante las diferentes fases del ciclo menstrual en la frecuencia de las conductas sexuales de los machos.	27
Método	28
Procedimiento experimental	31
Resultados	35
Discusión	45
EXPERIMENTO 2. Efecto de las secreciones vaginales producidas durante la fase receptiva en la concentración de testosterona, LH y cortisol de los machos.	51

Método	52
Procedimiento experimental	53
Resultados	56
Discusión	62
DISCUSIÓN GENERAL	69
CONCLUSIONES	74
REFERENCIAS	75
APÉNDICE	87

Resumen

Se ha descrito que algunas hembras de prosimios y monos del Nuevo Mundo utilizan la comunicación química por medio de feromonas para señalar al macho su receptividad. En el caso de los monos del Viejo Mundo y simios la comunicación olfatoria ha sido de menor importancia para su estudio. En parte, esto se debe a la especialización de otras señales conductuales y visuales para indicar la receptividad, por ejemplo, las hinchazones de la región de los genitales, además de las complejas interacciones sociales entre los individuos. Las hembras del macaco cola de muñón, *Macaca arctoides*, no presentan hinchazones sexuales como indicio de receptividad, aunque los machos inspeccionan constantemente los genitales de las hembras cuando se encuentran en la fase periovulatoria. El objetivo de este estudio fue averiguar si las secreciones vaginales de las hembras de *Macaca arctoides* podían considerarse como feromonas, es decir, señales que comunican al macho el estado reproductivo. Para ello, se expuso a 5 machos a secreciones vaginales producidas en diferentes fases del ciclo de 5 hembras o solución salina como control y se evaluó, bajo condiciones de grupo social, si había en ellos un efecto conductual sexual (medido como cambios en conductas de exploración de genitales, de agresión sexual y montas copulatorias) o endocrino en machos anestesiados (concentración de testosterona, LH y cortisol en suero).

Los machos exploraron con mayor frecuencia los genitales de las hembras cuando se expusieron a secreciones de las fases folicular, periovulatoria y lútea temprana en comparación con la salina o secreciones de menstruación y lútea tardía, aunque la mayor frecuencia se observó con el olor de la fase periovulatoria. Además, éste último olor provocó que los machos invirtieran más tiempo en la exploración hacia las hembras. Los efectos conductuales observados dependieron del rango del macho, y de la hembra que fue donadora de las secreciones vaginales. Por otra parte, en respuesta al olor de las secreciones de la fase periovulatoria se observó un pico de LH 30 min después de que el macho se expusiera al olor. También se observó un aumento de testosterona que se mantuvo hasta los 120 minutos después de la exposición. Este efecto no se observó con el olor de menstruación ni con salina. El cortisol no se modificó ante ningún olor. Estos resultados sugieren que las secreciones vaginales pueden ser utilizadas por los machos de *Macaca arctoides* como señales del estado reproductivo de las hembras.

MARCO TEÓRICO

1 Interacciones socio-sexuales entre los primates

Una de las características más distintivas de los primates es la formación de organizaciones sociales variadas y complejas, que dependen principalmente de los factores ambientales. Sus sociedades pueden variar desde grandes grupos con diversas clases de interacciones sociales que pueden ser desde asociaciones a largo plazo, subgrupos, alianzas temporales, individuos que forrajean de forma solitaria y que sólo se reúnen con las hembras en la época de apareamiento (Cheney y col., 1987; Cheney y Seyfarth, 1990).

La complejidad de los grupos, aunque ofrece ventajas para los individuos – protección contra depredadores, defensa de recursos alimenticios– también da lugar a una gama de interacciones sociales y sexuales (Williamson y Dunbar, 1999). Una de las interacciones entre los individuos es la competencia por conseguir recursos alimenticios y parejas (Walters y Seyfarth, 1987). Por una parte, los machos compiten para copular con un mayor número de hembras fértiles e incrementar así su éxito reproductivo; por otro lado, las hembras deben enfrentar grandes retos durante el cuidado de las crías, entre ellos el riesgo de infanticidio, la competencia por los recursos o por machos que ofrezcan beneficios como el cuidado parental, entre otros (Hrdy, 1981).

Para hacer frente a las competencias y tener acceso a los recursos, han evolucionado caracteres que proporcionan a los individuos alguna ventaja ya sea para la supervivencia o para la reproducción (Paul, 2002). Así, hay primates que presentan dimorfismo sexual pronunciado, por ejemplo, aquellos en los que el tamaño corporal o de los caninos es mayor en los machos que en las hembras, o los machos pueden exhibir una coloración más llamativa en la piel (Plavcan, 1999). Uno de los primates que se distingue por su marcado dimorfismo sexual es el mandril (*Mandrillus sphinx*), donde el mayor tamaño corporal de los machos les permite competir con otros por el acceso a las hembras. A su vez, la coloración conspicua resulta atractivo para las hembras (Setchell y Dixson, 2001).

De igual forma, las hembras pueden competir entre ellas por los machos de su preferencia, exagerando algún carácter que las haga más atractivas (Pagel, 1994; Paul, 2002). Por ejemplo, las hinchazones y cambios de coloración que exhiben algunas monas del Viejo Mundo (Pagel, 1994; Domb y Pagel, 2001), o las secreciones vaginales de monas del Nuevo Mundo (Smith y Abbott, 1998; Heymann, 2001). Las interacciones competitivas que se presentan en los monos son variables y dependen, en parte, del sistema de apareamiento de los mismos, es decir, de la forma en que los individuos obtienen pareja, cuántas y el cuidado que ambos dedican a las crías (Emlen y Oring, 1977; Davies, 1991).

2 Competencia y sistemas de apareamiento en primates

Hay primates que viven en pareja (monogamia), que puede ser de largo plazo y donde ambos sexos cuidan a la descendencia; ejemplos son el gibbon y la mayoría de los prosimios. Las especies monógamas son arbóreas y muestran pocas diferencias sexuales en tamaño y aspecto físico (Geary, 1998). Cuando una hembra se aparea con más de un macho, con quienes puede establecer nexos de larga duración e incluso ambos machos cuidan de las crías, se trata de un sistema poliándrico. Este sistema es característico de las marmosetas y calitricidos, que no son especies que presentan dimorfismo sexual notorio (Dixson, 1998). Hay primates poligínicos donde un macho defiende y se aparea con un grupo de hembras, como por ejemplo los gorilas. Para que el macho pueda defender a su grupo de hembras necesita enfrentarse a otros machos, por lo que estos son de mayor tamaño que las hembras. En los grupos multimacho-multihembra, característico de los macacos, las hembras se aparean con varios machos, pero la pareja sólo se une para copular, sin llegar a un nexo a largo plazo (Dixson, 1998). En este sistema también hay dimorfismo sexual, como resultado de la competencia entre los machos por el acceso a las hembras receptivas (Clutton-Brock, 1989; Mitani y col., 1996).

Los efectos de la competencia entre los machos por dominar un grupo de hembras o por aparearse con las que están receptivas, se reflejan en la formación de jerarquías de dominancia, donde los individuos de alto rango tienen prioridad de acceso

a los recursos (hembras receptivas, alimento, agua, aseo social, zonas de descanso, etc.) y los de bajo rango tienen menor oportunidad para acceder a ellos (Hrdy, 1981; Walters y Seyfarth, 1987).

3 Cópulas forzadas en primates

Aunque en los sistemas donde un macho se aparea con más de una hembra, los machos compiten por el acceso a las hembras, también éstas pueden elegir al macho con quien iniciar una cópula (Small, 1993). Esto se ha observado por medio de las señales que las hembras emiten directamente al macho, como una solicitud de cópula (Smuts, 1987). Algunos autores como Slob y col., (1978a) han encontrado que cuando las hembras de *Macaca arctoides* están en la fase periovulatoria, aumentan las presentaciones genitales hacia los machos. Sin embargo, la elección de la hembra puede estar restringida por las estrategias competitivas del macho como por ejemplo, las cópulas forzadas, lo que dificulta analizar si un acto en particular representa una verdadera elección de la hembra o un compromiso entre sus intereses y los del macho (Smuts, 1987). Este compromiso puede verse claramente cuando los machos agreden o persiguen a las hembras para intentar montarlas, incluso cuando éstas no están receptivas o cuando no fue el macho de su elección (Dixson, 1998).

Las cópulas forzadas por parte del macho, representan una táctica oportunista de apareamiento, que no siempre garantiza el éxito reproductivo del macho, debido a que las hembras poseen diversas estrategias postcopulatorias para elegir la paternidad (Eberhard, 1996). Sin embargo, en los casos en que la agresión genera que las hembras forzadas a copular se mantengan próximas al macho, el resultado puede ser un aumento en el número de apareamientos exitosos entre ellos (Soltis y col., 1997). De acuerdo a Kappeler y van Schaik (2002) la elección crítica de la hembra, la hinchazón sexual de los genitales y las modificaciones del periodo fértil del ciclo reproductor, son mecanismos que minimizan la agresión sexual hacia las hembras, cuando éstas no están dispuestas a copular.

4 Rangos de dominancia y supresión reproductiva

La competencia entre los primates puede o no implicar enfrentamientos agresivos (Andersson, 1994; Paul, 2002). Cuando la competencia se presenta bajo la forma de encuentros físicos, se denota el rango de dominancia de los machos, el cual está determinado por la edad, el sexo, la habilidad para pelear, la longitud de tiempo que han permanecido en el grupo, el rango de la madre y de las alianzas (entre machos y hembras) que sean capaces de conseguir (Roonwal y Mohnot, 1977; Walters y Seyfarth, 1987). Los rangos de dominancia son muy evidentes en grupos de primates poligínicos y los multimacho-multihembra, porque los machos compiten por aparearse por medio de enfrentamientos agresivos (Dixson, 1998). El resultado de estas peleas es que los machos más fuertes, que usualmente son los de mayor rango, ganan el acceso a las hembras y los de menor rango quedan excluidos, de manera que, si un macho subordinado intenta aparearse con alguna hembra, será interrumpido con amenazas persistentes por parte de los dominantes (Murray y col., 1985). Esta agresión provocada por los enfrentamientos entre los individuos puede llevarlos a una condición de estrés (Sapolsky, 1993).

El estrés es una reacción fisiológica que se desencadena ante un estímulo adverso del ambiente, por ejemplo una agresión, la falta de alimento, el aislamiento social, entre otras (Peláez del Hierro y col., 1996). Si los individuos de menor rango se someten a un estrés constante, pueden sufrir de una supresión reproductiva, que dependiendo de la especie puede ser temporal o a largo plazo (Sapolsky, 1993; Abbott, 1993). El mecanismo por el que esto ocurre es vía la secreción de hormonas como la adrenalina y los glucocorticoides, que además de alterar el estado emocional del individuo, pueden modular la secreción de gonadotropinas y así afectar la actividad reproductora (Mahesh y Brann, 1996).

Esta forma de supresión reproductiva es muy común entre los primates que viven en grupos con múltiples machos. En los babuinos de la especie *Papio anubis* se ha observado que durante episodios agonistas, la concentración de testosterona disminuye en los subordinados debido a la inhibición de la secreción de la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés), que es secretada por la hipófisis y que estimula en el testículo la secreción de testosterona. De forma contraria, en los machos dominantes

que son menos susceptibles a la agresión, los encuentros provocan un aumento en la secreción de testosterona (Abbott y col., 2003). En el lemur sifaka (*Propithecus verreauxi*), también se ha encontrado que los machos dominantes poseen mayor concentración de testosterona, aun en la estación no reproductiva, en comparación con los subordinados sociales (Kraus y col., 1999). En los calitricidos (marmosetas y tamarinos) se presenta una supresión reproductiva debido a la fuerte influencia de la familiaridad, es decir, los machos jóvenes pueden verse inhibidos a copular ante la presencia de su padre o algún macho adulto dominante. Sin embargo, se trata únicamente de una supresión conductual, ya que la testosterona no cambia y la eyaculación de manera artificial muestra que la concentración espermática es la misma en todos los individuos (Abbott, 1993). Además los dominantes permiten a los de bajo rango copular pero sólo cuando las hembras no están receptivas (Abbott, 1993).

La posición en la jerarquía también afecta la fertilidad de las hembras, pues son generalmente las dominantes quienes tienen prioridad de acceso a los recursos y tienden a hostigar a otras hembras e incluso pueden matar a los hijos de las que son subordinadas (Barrett y col., 1990).

Finalmente, también se ha observado que por medio de componentes químicos, los individuos pueden suprimir la actividad reproductora de otros. Por ejemplo, en las marmosetas las secreciones de las glándulas vaginales de marcaje, son utilizadas por hembras de alto rango, como un medio para mantener inhibida la ovulación de las de menor rango (Barrett y col., 1990; Abbott, 1993). El rango de dominancia entonces, se convierte en una característica que contribuye a aumentar el éxito reproductivo de los individuos (De Ruiter y van Hooff, 1993; Geary, 1998).

5 El ciclo estral y menstrual

Las hembras de los mamíferos tienen ciclos reproductivos que pueden ser catalogados como menstruales o estrales. El ciclo menstrual es característico de algunos monos del Nuevo Mundo, de los del Viejo Mundo, los simios y el ser humano; el resto de los mamíferos tienen ciclos estrales. En ambos ciclos, los eventos reproductivos involucran el crecimiento y maduración del folículo ovárico, que expulsará al ovocito durante la ovulación y la regulación neuroendocrina de la secreción de las hormonas sexuales.

Estas hormonas se clasifican en gonadotropinas hipofisiarias y hormonas esteroideas de origen ovárico. Las primeras son, la hormona folículo estimulante (FSH, por sus siglas en inglés) y LH. Las ováricas comprenden a los estrógenos y la progesterona principalmente. Durante la fase de desarrollo folicular, los estrógenos y la LH aumentan de manera gradual hasta culminar con un “pico” preovulatorio a la mitad del ciclo, que induce la ruptura del folículo y la liberación del ovocito, es decir, la ovulación. A la fase en que ocurre este proceso se le conoce como estro (en los ciclos estrales) o periovulatoria (en los ciclos menstruales). Después de la ovulación, el folículo se transforma en un cuerpo lúteo secretor de progesterona, que se mantiene durante la fase lútea (Freeman, 1988). Sin el funcionamiento adecuado de este mecanismo neuroendocrino, se verían afectadas tanto la fisiología como el comportamiento sexual del organismo (Dixson, 1998).

En las especies que tienen ciclos estrales, como los prosimios, la disponibilidad sexual de la hembra para permitir una cópula con el macho, está usualmente limitada a la fase estral del ciclo; fuera de este tiempo, las hembras rechazan a los machos y no permiten ningún intento de cópula. Entonces, el estro es un tiempo limitado en el que una hembra pasa de inactividad sexual, a un estado de actividad sexual en el que está preparada para aceptar la cópula con un macho. Si después del estro, y por lo tanto de la ovulación, no se fertilizó ningún ovocito, progresa una fase de recuperación denominada metaestro en la que ocurren cambios morfológicos y fisiológicos del tracto reproductivo que permiten el inicio de otro ciclo (Freeman, 1988).

En contraste, el ciclo menstrual se denomina así porque dura aproximadamente un mes y a diferencia del estral, si después de la ovulación no se fecundó ningún ovocito, el ciclo culmina con el desprendimiento del endometrio, que se refleja en un sangrado cada mes (Knobil y Hotchkins, 1988). En los primates antropoides que tienen este tipo de ciclo, el control hormonal de la actividad sexual no es tan rígido, por lo tanto, las interacciones sexuales no siempre están confinadas al periodo alrededor de la ovulación. Aun así, diversos estudios muestran que los machos se aparean con las hembras con mayor frecuencia durante la fase periovulatoria.

El grado en que las hormonas afectan la actividad sexual, depende de varios factores, entre ellos figuran la especie, el ambiente social y las condiciones

experimentales bajo las cuales se reportan los datos. Por ejemplo, se ha mostrado que la ovariectomía en chimpancés y algunos macacos, disminuye, pero no elimina las cópulas ni la receptividad de las hembras (Herbert, 1970; Slob y col., 1978b). En la literatura es común que al experimentar con parejas aisladas, los machos copulen sin importar el estado endocrino de las hembras. Sin embargo, cuando se realizan observaciones de animales en libertad o en grupos en cautiverio exterior, se encuentra que hay una mayor frecuencia de cópulas cuando las hembras están en la fase periovulatoria (Murray y col., 1985; Wallen, 2001).

Para los machos, es más ventajoso concentrar las cópulas alrededor de la ovulación, porque así maximizan las oportunidades para incrementar su éxito reproductivo (Radwan, 1995), de manera que las montas fuera de la fase periovulatoria podrían tener otra finalidad distinta a la de concebir. Un ejemplo lo encontramos en el macaco cola de muñón (*Macaca arctoides*) en el que se ha descrito que las continuas separaciones y reuniones de hembras de un grupo social, provoca que los machos las monten sin importar su condición reproductiva. Esto es indicativo de que en los monos del Viejo Mundo la sexualidad es utilizada también para fortalecer nexos sociales.

Pero, si es más ventajoso en términos reproductivos que los machos copulen con hembras en la fase cercana a la ovulación ¿cómo pueden distinguir los machos cuando las hembras están próximas a ovular o en la fase de mayor receptividad?

6 Señalización del estado reproductivo de las hembras

Dado que algunos primatólogos han sugerido que el estro en primates se refiere a la motivación de la hembra para aparearse, como una condición que no siempre está correlacionada de manera cíclica con el momento de la ovulación (Fedigan, 1982), en el estudio de la sexualidad de los primates, generalmente se utiliza la terminología propuesta por Beach (1976): *proceptividad*, *atractividad* y *receptividad*.

La proceptividad se reconoce cuando una hembra despliega patrones conductuales para iniciar y mantener interacciones sexuales con los machos, aunque las hembras no estén disponibles para permitir una cópula. La atractividad se refleja como cambios en la morfología genital de la hembra o en la composición de las secreciones glandulares y de la vagina, que tienen la finalidad de atraer a los machos

(Dixon, 1998). La receptividad se refiere al momento en que la hembra está fisiológica y conductualmente disponible para ser fertilizada. A pesar de que la atractividad y la receptividad son reguladas por los cambios hormonales que ocurren de manera cíclica, no siempre coinciden. Esto es evidente cuando se observa que las señales de atractividad de la hembra comienzan a aparecer en la fase folicular tardía, sin que por ello se encuentre ya receptiva; dicha situación resulta comprensible si se considera que la hembra se beneficia al promover con anticipación el acercamiento de los machos, lo cual incrementa la oportunidad de aparearse con más de uno (Hrdy y Whitten, 1987; Small, 1993). Generalmente, las señales de atractividad llegan a su máxima expresión, cuando la hembra está ya receptiva, alrededor de la ovulación (Deschner y col., 2003).

Las hembras se ven beneficiadas al indicar su estado reproductivo —en algunos casos de manera prominente— porque podría ser una forma de inducir competencia entre los machos por el acceso a ellas, de manera que se tengan altas probabilidades de aparearse con el “mejor” (Pagel, 1994). Por otra parte, un macho puede incrementar su éxito reproductivo al elegir una hembra receptiva, altamente fecunda y que tenga características que le indiquen que puede ser una pareja potencial para el cuidado de la descendencia (Verrell, 1991; Singh, 1993; Pagel, 1994; Domb y Pagel, 2001).

6.1 Señalización visual, conductual y acústica

Como fue originalmente descrito por Darwin (1871), las estrategias sexuales en el reino animal para atraer y estimular a los miembros del sexo opuesto incluyen el uso de diversas señales, que pueden ser visuales, acústicas, táctiles y químicas. Los primates, dependiendo de la especie y su historia de vida, utilizan los cuatro tipos de comunicación.

Una de las formas más conspicuas de señalización visual del estado reproductivo es la que presentan la mayoría de las hembras de monos del Viejo Mundo. En estas monas, a partir de la fase folicular tardía, la región perineal se enrojece y se hincha hasta llegar a un máximo el día en que ocurre la ovulación y después disminuye gradualmente, conforme progresa la fase lútea. Generalmente, el pico preovulatorio de hormonas y la ovulación coinciden con la hinchazón máxima, que indica al macho la ovulación (Deschner y col., 2003).

Esta señalización la presentan de manera predominante grupos multimacho-multihembra donde las hembras tienen la oportunidad de aparearse con más de un macho (Pagel, 1994). Así, la mayoría de las especies pertenecientes a los géneros *Macaca*, *Papio*, *Colobus* y *Pan* poseen hinchamientos muy pronunciados, mientras que en otras como los gibones (monógamos), los gorilas (poligínico) y el orangután (promiscuo), es poco notorio o está ausente (Rodman y Mitani, 1987; Hrdy y Whitten, 1987; Dixson, 1998; Nunn, 1999; Domb y Pagel, 2001). En este caso, no sólo se ha propuesto que la hinchazón induce competencia por las hembras (Pagel, 1994), también se ha propuesto que las hembras compiten entre ellas exhibiendo mayor hinchazón (Domb y Pagel, 2001).

Las hembras usan también señales conductuales que aumentan su atractividad, por ejemplo, incrementan la frecuencia de presentaciones perineales hacia los machos o se mantienen próximas a ellos (Small, 1993). La contribución que la hembra realiza con las conductas proceptivas hacia el macho, incrementa la actividad sexual durante la fase periovulatoria (Soltis y col., 1997). Además, las hembras utilizan una gran variedad de posturas corporales, expresiones faciales y vocalizaciones como conductas proceptivas, por ejemplo, dirigir la mirada al macho puede ser una señal de invitación sexual (Dixson, 1998). La mayoría de los catarrinos y algunos platirinos utilizan el castañeteo de dientes o el chasquido de labios, en combinación con la mirada, en ocasiones seguido de una presentación perineal al macho (Dixson, 1998). El mono aullador por ejemplo, utiliza un chasquido de labios y un movimiento de lengua como un patrón precopulatorio (Glander, 1980). Las marmosetas efectúan un patrón conductual similar, pero además, los machos pueden lamer la región perineal de la hembra (Dixson, 1998).

La comunicación conductual es de relevancia para las especies que no señalizan de manera prominente la receptividad. Además del humano, esta característica es típica de los calitricidos, de los langures y de algunas especies de macacos. Hrdy (1979) sugirió que las estrategias sexuales de las hembras, han sido el resultado de un proceso de selección sexual para reducir el riesgo de infanticidio. Muchas de las especies que presentan hinchazón perineal son infanticidas, por lo que se cree que puede ser una estrategia de la hembra para aparearse con más machos y así aumentar

la confianza de paternidad (Hrdy, 1979; Van Schaik y col., 1999). Un interesante trabajo fue realizado por Zinner y Deschner (2000) en el que mostraron que hembras lactantes del babuino hamadryas rápidamente presentaban hinchazón sexual ante la presencia de machos inmigrantes al grupo. Aunque estos machos copularon con las hembras, estas no quedaron gestantes y las crías lactantes sobrevivieron. Esto sugiere que no siempre la atractividad va ligada a una condición de fertilidad y que la receptividad puede ser dependiente de la situación social, para reducir la posibilidad de infanticidio.

A pesar de que la mayoría de los cercopitecinos poseen cambios prominentes de la región genital, el macaco cola de muñón (*Macaca arctoides*), que no es infanticida, no la presenta lo que apoyaría la hipótesis de Hrdy (1979) y Van Schaik y col., (1999).

7 Señalización química

En principio, una señal es la forma que adquiere un mensaje para su transmisión a través del medio ambiente (Mondragón-Ceballos, 1994). Una señal puede emitirse con cualquier parte del cuerpo, con un movimiento (señales físicas), o con la emisión de algún componente de secreción (señales químicas). Las moléculas utilizadas para la comunicación química han ido cambiando de función en el curso de la evolución. Incluso, algunas de ellas originalmente tenían otro uso o significado, por ejemplo, algunas hormonas, la saliva o productos de desecho como la orina y las heces (Wyatt, 2003).

Como se mencionó con anterioridad, un macho se verá beneficiado al elegir una hembra receptiva; sin embargo, en ausencia de alguna señal prominente que indique receptividad sexual, que es lo que se conoce como ovulación escondida, el macho tiene que usar otros indicios para asegurarse de la condición endocrina de la hembra. Una opción son los componentes químicos (también llamados semioquímicos) percibidos por el sistema olfatorio, como por ejemplo, las secreciones glandulares de la vagina y la orina, muy utilizadas por los prosimios y monos del Nuevo Mundo (Smith y Abbot, 1998).

Dentro de los componentes que intervienen en las señales químicas se pueden citar a los aleloquímicos y los homeoquímicos o también llamados feromonas

(Mondragón-Ceballos, 1994). Los primeros son responsables de la transmisión de información entre individuos de diferentes especies, por ejemplo, el olor que despliega un animal enfermo o estresado, puede atraer a un depredador, o el olor que despliegan las flores para atraer insectos polinizadores. Las feromonas son los componentes utilizados para la comunicación intraespecífica, es decir, son secretadas y percibidas por miembros de la misma especie (Karlson y Lüscher, 1959; Singer, 1991; Wyatt, 2003).

7.1 Feromonas en mamíferos

Actualmente, existen varias definiciones del término feromona, pues referirse a la comunicación intraespecífica involucra diversas funciones específicas como el reconocimiento individual y materno, el marcaje territorial, la emisión de señales de alarma, de señales de atracción sexual, señales que provocan cambios hormonales – sincronización de los ciclos– etc., (Johnston, 2003). Una definición general es que las feromonas son compuestos que al ser percibidos pueden provocar dos clases de efectos: conductuales y endocrinos, que originalmente fueron clasificados como efectos liberadores y promotores (Karlson y Lüscher, 1959). Johnston (2003) sugiere que esta clasificación resulta un tanto arbitraria, pues generalmente una reacción conductual está asociada a un cambio endocrino; por ejemplo, la hembra de la rata libera feromonas en la orina que provocan en el macho la secreción de testosterona y también la conducta de cópula (Sachs, 1999; James y Nyby, 2002). No obstante, se han descrito efectos endocrinos sin una manifestación conductual aparente, como por ejemplo, la sincronización de los ciclos reproductivos en las hembras tanto en roedores como en humanos, o cambios en la concentración espermática (Stern y McClintock, 1998; Shinohara, 2000; ver Koyama, 2004 proporciona una revisión extensa de efectos promotores). Aunque desde el punto de vista experimental sea importante la distinción de los efectos por feromonas, es conveniente considerarlos como un continuo de eventos que ocurren en un lapso de tiempo ya sea a corto o largo plazo (Sachs, 1999).

A la definición de feromona, como compuestos que ejercen efectos específicos, conductuales y endocrinos en individuos de la misma especie, Meredith (1998) agregó

que las feromonas son usadas para obtener beneficios mutuos durante la comunicación entre los individuos. Por ejemplo, cuando una hembra receptiva, libera una feromona que señala al macho su condición reproductiva, ambos ganan una pareja para copular e incrementan su éxito reproductivo. Por otra parte, Rodríguez (2004) plantea que los efectos de las feromonas no necesariamente son mutuamente benéficos. El beneficio que se pueda obtener, dependerá tanto de la especie como de la función o el contexto en que se secreta determinado compuesto.

Martin (1980) incluyó en su definición el que los efectos de las feromonas, además de ser claros y especie-específicos, debían estar poco influenciados por la experiencia. Sin embargo, en los mamíferos, las feromonas son percibidas por un órgano sensorial: el sistema olfatorio, el cual tiene conexiones importantes con centros del cerebro que regulan diversas funciones como el aprendizaje y la experiencia (Fernández-Fewell y Meredith, 1998).

El papel que juegan las feromonas en la mayoría de los mamíferos está bien documentado para algunos carnívoros, animales domésticos, roedores y lagomorfos (Wyatt, 2003). El hámster por ejemplo, produce una feromona de naturaleza proteica llamada afrodisina, liberada con las secreciones vaginales, que estimula el comportamiento sexual del macho (Macrides y col., 1984; Singer y col., 1986). En la oveja, también se ha descrito una feromona en la lana del macho que induce cambios pulsátiles en el ritmo de secreción de la LH que promueven la ovulación (Signoret, 1991, Gelez y Fabre-Nys, 2004). En roedores, hay feromonas provenientes de la orina de los machos que inhiben la maduración sexual de otros más jóvenes o que disminuyen la motilidad espermática (Lawton y Whitsett, 1979; Koyama y Kamimura, 1999). De forma similar, las feromonas de la hembra de rata, promueven el retraso de la ovulación (Bronson y Whitten, 1968). La madre coneja emite, a través del pezón, la llamada feromona mamaria cuyo componente activo, el 2-metilbut-2-enal, permite a las crías, que nacen ciegas, localizar y alcanzar los pezones de la madre en unos cuantos segundos y succionarlos para obtener la leche (Hudson y Distel, 1983; Schaal y col., 2003).

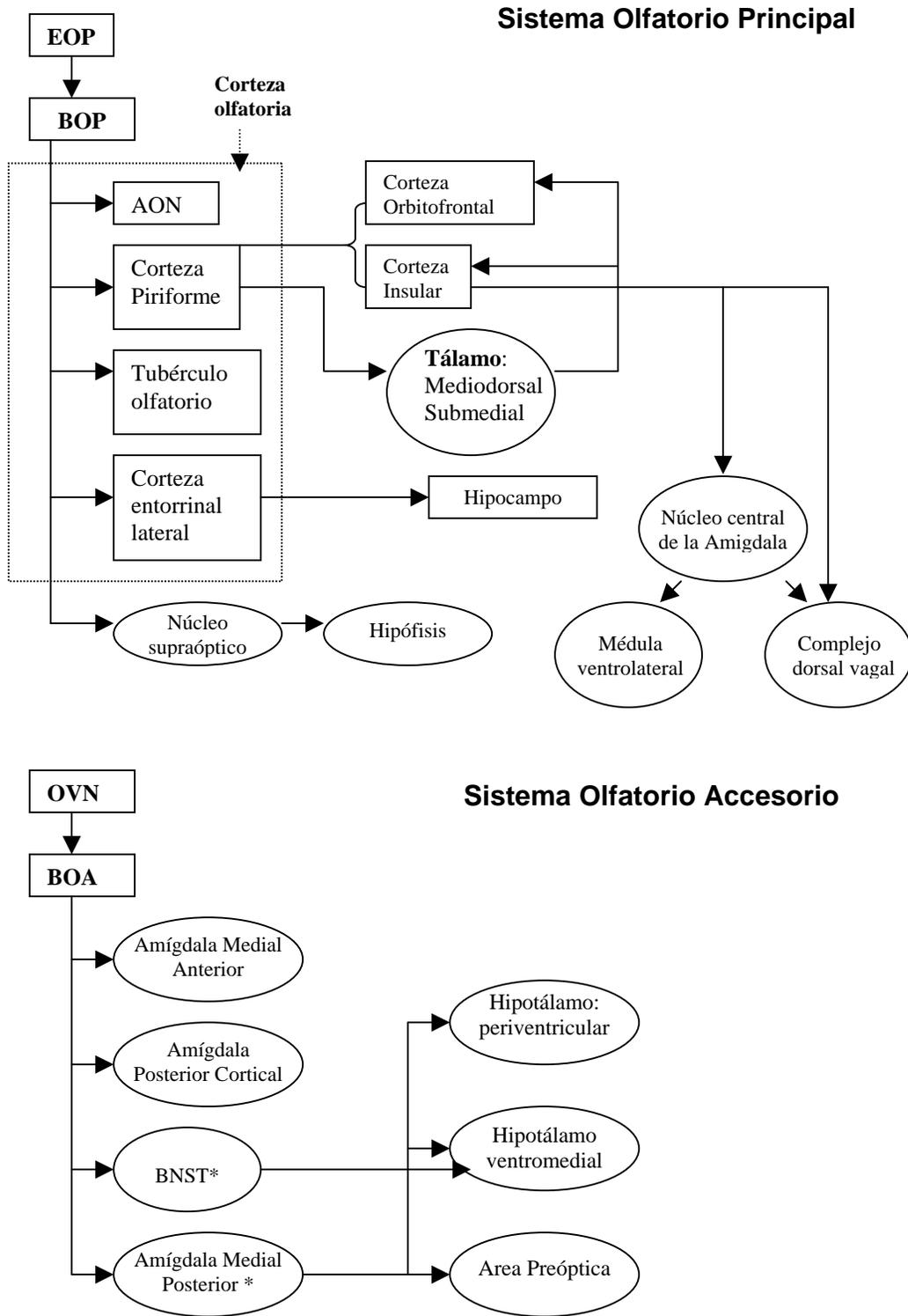


Figura 1. Principales conexiones eferentes neurales del sistema olfatorio principal y del sistema olfatorio accesorio o del órgano vomeronasal. En el primero, los rectángulos indican regiones corticales y los óvalos indican regiones subcorticales. * Núcleos sexualmente dimórficos. EOP: Epitelio olfatorio principal; BOP: Bulbo olfatorio principal; OVN: órgano vomeronasal; BOA: bulbo olfatorio accesorio; BNST: cama nuclear de la estria terminal. Tomado de Maclean y Shipley (1992).

7.2 El sistema olfatorio

Hasta hace poco se describía al sistema del órgano vomeronasal (OVN) como el encargado de la percepción de las feromonas y al sistema olfatorio principal (SOP) como el procesador de los demás olores del ambiente (Singer, 1991). Esto se debe, en parte, a que la mayoría de las respuestas específicas por feromonas que originalmente se describieron en ratas, estaban mediadas por el OVN. Por otra parte, la ruta neural de ambos sistemas olfatorios es diferente; en principio, las neuronas del sop proyectan sus axones al bulbo olfatorio principal y de aquí se dirige a una variedad de núcleos cerebrales, incluyendo la corteza olfatoria (Figura 1). Mientras que las neuronas del OVN proyectan al bulbo olfatorio accesorio. En roedores, se ha mostrado que los principales núcleos cerebrales a donde llega la información de la ruta accesorio son regiones del sistema límbico como el hipotálamo, el núcleo cortical medial y posteromedial de la amígdala y la parte caudal postero-medial de la cama nuclear de la estría terminal (pmBNST). En el hámster por ejemplo, se ha observado que al exponer a machos sin experiencia sexual a las secreciones vaginales, hay completa activación del bulbo olfatorio accesorio y mínima del principal (Meredith, 1998). También hay activación de neuronas de la región pmBNST, que se sabe regula la conducta de inspección sexual.

Por otra parte, las neuronas del SOP expresan receptores de diversas familias de genes, mientras las del OVN expresan receptores sólo de dos familias (Rodríguez, 2004). Estudios recientes han mostrado que el epitelio olfatorio principal también expresa una de las clases de receptores presente en el OVN, lo que explicaría que funciones que dependen de alguna feromona puedan ocurrir aun en ausencia de dicho órgano. Así, en el hámster se ha observado que la región cerebral que comúnmente muestra actividad durante la cópula: el área preóptica medial, se activa en machos con lesión de OVN y expuestos a las secreciones o a una hembra receptiva (Fernández-Fewell y Meredith, 1994, 1998).

Parte de la controversia sobre la existencia o no de feromonas en primates del Viejo Mundo, se debe a que poseen sistemas de comunicación social y visual más complejos y además son considerados como animales microsmáticos, es decir, la

región del cerebro que procesa información olfatoria es menor, en comparación con el tamaño del cerebro (Stensaas y col., 1991). Por otra parte, el OVN es de menor tamaño, en comparación con los demás mamíferos (Smith y col., 2001). Se ha descrito que en los prosimios y monos del Nuevo Mundo dicho órgano es funcional, pero en los monos del Viejo Mundo, simios y humanos, se describe como una estructura vestigial.

Además hasta el momento, se ha descrito el desarrollo de un sistema vomeronasal y accesorio durante la etapa fetal, pero sin que se detecte en individuos adultos (Meisami, y col., 1998; Bhatnagar y Meisami, 1998).

7.3 Feromonas en primates

Aunque en monos del Viejo Mundo y simios, no se ha detectado un sistema accesorio funcional, se tienen evidencias de comunicación por medio de feromonas en los primates; no obstante, la información proviene principalmente de estudios en prosimios y algunas especies de monos del Nuevo Mundo. Ambos grupos emplean mecanismos de comunicación olfatoria, pues conservan estructuras glandulares especializadas que se localizan, dependiendo de la especie, en la región del esternón, en el abdomen, en la región inguinal y en el área anogenital (Epple y col., 1986; Seller, 1987; Schilling y Perret, 1987). Por ejemplo, el lémur catta tiene glándulas sudoríparas apócrinas en la superficie del órgano antebraquial (Dixson, 1998). Las marmosetas y los tamarinos tienen glándulas sebáceas y apócrinas especializadas en la región anogenital (Sutcliffe y Pool, 1978). El mono aullador rojo posee glándulas en el esternón que utiliza para ejecutar una conducta de frotado ante una situación hostil o el acercamiento de otros individuos (Sekulic y Eisenberg, 1983). Los mandriles (*Mandrillus sphinx*) también poseen glándulas de marcaje en el esternón (Setchell y Dixson, 2001).

Asimismo, efectos fisiológicos y conductuales de las feromonas han sido bien documentados para algunos prosimios (Schilling y Perret, 1987), monos del Nuevo Mundo (Smith y Abbott, 1998) y para la especie más estudiada, el mono rhesus (*Macaca mulatta*) (Michael y Keverne, 1968, 1970a, 1970b). En el lémur ratón (*Microcebus murinus*), un prosimio nocturno, se ha observado que la conducta de marcaje por medio de la orina del macho es más activa cuando se presenta la estación

reproductiva, misma que coincide con la más elevada concentración de testosterona (Schilling y Perret, 1987). Por otra parte, Smith y Abbott (1998), han mostrado que las hembras de marmosetas comunes (*Callithrix jacchus*), en sus secreciones vaginales, poseen compuestos químicos que permiten al macho discriminar entre las diferentes fases del ciclo ovulatorio y entre el rango social de las hembras cuando están en la fase periovulatoria. Los machos del mono aullador normalmente inspeccionan la orina de la hembra oliendo los lugares marcados y, en ocasiones tomando directamente una muestra de la orina con los labios ligeramente separados y la cabeza levantada. De acuerdo con Dixson (1998), este tipo de movimientos con la boca pueden estar destinados a llevar los componentes al ducto nasopalatino y al órgano vomeronasal (Estes, 1972).

El grupo de primates menos estudiado son los monos del Viejo Mundo, debido a que exhiben mecanismos sociales y visuales de comunicación más complejos que los prosimios y por lo tanto se ha argumentado que ejercen menor uso de mecanismos olfatorios, aunque su posible importancia aún no ha sido bien investigada (Dixson, 1998; Rodríguez, 2004).

En macacos es frecuente observar que los machos realizan constantes inspecciones olfatorias de la región anogenital de las hembras, antes de decidir o no comenzar una cópula (Fooden, 1990; Hrdy y Whitten, 1987). En estudios con macaco cola de muñón, las montas copulatorias que culminan con eyaculación aumentan cuando las hembras se encuentran en la fase periovulatoria, lo que sugiere la existencia de sustancias químicas que funcionan como atrayentes (Murray y col., 1985). Estas evidencias hacen pensar que en monos catarrinos la olfacción también es un medio esencial o alternativo para comunicar información acerca de la sexualidad entre consortes.

De los estudios llevados a cabo con macacos, pueden citarse los clásicos de Michael y Keverne (1968, 1970), quienes utilizaron ampliamente el modelo de la hembra ovariectomizada (ovx). Inicialmente, Michael y Keverne (1968) condicionaron machos a oprimir palancas para tener acceso a hembras con dos tratamientos: hembras ovx u ovx tratadas con estradiol por vía sistémica. Después de 250 ensayos, en la mayoría de los casos los machos prefirieron tener acceso y copular con las

hembras ovx tratadas con estradiol. A partir de estos hallazgos los autores llegaron a la conclusión de que había un componente dependiente de los estrógenos que hacía más atractivas a las hembras.

Para investigar si la atractividad era transmitida al macho vía sistema olfatorio, los mismos autores colocaron tapones nasales a los machos, y replicaron el diseño experimental. Los resultados mostraron que los machos anósmicos oprimían la palanca de acceso de manera indistinta a ambas hembras. Al retirar los tapones, los machos nuevamente prefirieron tener acceso a las hembras ovx tratadas con estradiol (Michael y Keverne, 1970a). Con la finalidad de averiguar si eran las secreciones vaginales lo que atraía a los machos, se colectaron lavados vaginales de las hembras ovx con administración de estradiol y se untaron en hembras que sólo habían sido ovx. Esto promovió que los machos aumentaran la frecuencia de cópulas y eyaculaciones con dichas hembras, en comparación con las que sólo tenían solución salina (Michael y Keverne, 1970b). Por ello, a las secreciones vaginales de hembras ovx tratadas con estradiol que tienen la propiedad de estimular el interés sexual del macho se les denominó copulinas (Michael y Keverne, 1970b).

No obstante, otro grupo de investigadores reprodujeron el diseño experimental realizado por Michael y colaboradores con mono rhesus, pero utilizando machos que por primera vez tenían interacción con hembras ovariectomizadas, para descartar un efecto de aprendizaje. De esta forma Goldfoot y col., (1975) no encontraron diferencias significativas entre la respuesta sexual de los machos cuando fueron expuestos a hembras sólo ovx y aquellas ovx a las que se untaron secreciones vaginales en la región perineal.

Estos autores encontraron que los machos disminuían su capacidad eyaculatoria con las hembras sin ovarios, pero lo atribuyeron a la falta de secreciones dependientes de estrógenos, que facilitan la intromisión.

Aparte del mono rhesus, no se han realizado otros estudios con las demás especies de macacos, principalmente en las que el componente visual de la coloración genital no se presenta, como es el caso de *Macaca arctoides*.

En humanos, los trabajos más relevantes sobre un posible efecto de feromonas, han sido los de Monti-Bloch y col., (1994,1998). Estos autores mostraron que en

hombres expuestos a pruebas olfatorias con la feromona sintética pregna-4,20-dien-3,6-diona, la concentración de las hormonas LH, FSH y testosterona fue menor a la de los hombres que no se expusieron al compuesto. Otras investigaciones han permitido corroborar que los efectos ejercidos por las feromonas en seres humanos son especie-específicos y sexo-específicos (Monti-Bloch y Grosser, 1991).

8 El Sistema reproductivo y la conducta sexual de *Macaca arctoides*

8.1 Organización social

En la actualidad, se conoce poco acerca del estilo de vida y la conducta del macaco cola de muñón en condiciones de vida silvestre (Fooden, 1990). De los estudios con los que se cuenta, se sabe que este macaco vive en grupos de 25 a 30 individuos con sociedades multimacho-multihembra de diferentes edades y rangos de dominancia, aunque puede haber integrantes que prefieran permanecer solitarios (Fooden, 1990). En la vida cotidiana estos monos utilizan una gran variedad de sistemas de comunicación que involucran señales auditivas, visuales, táctiles y olfatorias (Chevalier-Skolnikoff, 1975). Son muy activos por la mañana, la cual dedican a buscar alimento; posteriormente, alrededor del medio día descansan o comienzan una rutina de aseo social; por la tarde vuelven a mostrar actividad, hasta la noche en la que suelen descansar y dormir (Roonwal y Mohnot, 1977).

8.2 Características reproductivas de la hembra de *Macaca arctoides*

El macaco cola de muñón es la especie más distintiva de su género con respecto a algunos órganos genitales (como el pene y el tracto uterino), la conducta socio-sexual y el fuerte olor de los infantes (Fooden, 1990). Estos primates son de reproducción no estacional, es decir, con ciclos menstruales y actividad sexual todo el año (Dukelow y col., 1979). Las hembras presentan ciclos uterinos de aproximadamente 30 ± 2 días en promedio (\pm e.e.m.), con sangrados que ocasionalmente se pueden extender hasta períodos de 60 a 90 días, además el sangrado puede ser difícil de detectar a simple vista (Linnankoski y col., 1981). La inflamación prominente de la región perineal que se

observa cerca de la ovulación y que es característica de la mayoría de los macacos, no se presenta en las hembras de *Macaca arctoides* (Roonwal y Mohnot 1977; Dukelow y col., 1979). Algunos autores sugieren que carecen de ciclicidad en la conducta sexual, respecto a la observada en otros macacos de reproducción estacional (Slob y col., 1978a; Estep y col., 1984), aunque hay otros autores que muestran lo contrario (Murray y col., 1985).

8.3 Conducta copulatoria

La conducta copulatoria de esta especie no se ha estudiado en poblaciones naturales, motivo por el cual se cuenta solamente con registros de grupos en cautiverio y semicautiverio (Estrada y Estrada, 1976). La cópula puede ser iniciada por ambos sexos, como ocurre en otras especies del mismo género (Chevalier-Skolnikoff, 1975; Niemeyer y Chamove, 1983). Un macho inicia una cópula con la aproximación hacia la hembra, tocándola en la cadera para acercarla a él, o en ocasiones puede emitir manotazos agresivos o jalones de cadera para inducir una presentación perineal. Las hembras responden a la incitación del macho adoptando la posición de cópula o huyendo (Fooden, 1990). Por otra parte, una hembra puede iniciar una cópula con una presentación espontánea de cadera al macho, entonces éste generalmente examina el perineo de la hembra. Esta examinación puede ser visual, oral, olfatoria o digital (Bernstein, 1980). En general, una cópula es precedida de una inspección digital y olfatoria, aunque es importante comentar que este patrón conductual sexual puede observarse en otros contextos sociales, como por ejemplo para reforzar lazos familiares (Fooden, 1990; Roonwal y Mohnot, 1977).

Cuando el macho, después de realizar una inspección genital, copula con la hembra, la monta ocurre por detrás en una forma típica de cercopitecino, es decir, dorsoventral, usualmente apretando las piernas de la hembra con sus pies y la espalda con sus manos. Los registros de la duración de las montas copulatorias varían de entre 26 a 59 segundos y son acompañadas de intromisión con movimientos pélvicos. Durante la cópula las hembras suelen alcanzar hacia atrás y tomar con la mano al macho (Fooden, 1990; Roonwal y Mohnot, 1977). Una conducta típica de *Macaca arctoides* es que al ocurrir la eyaculación, el macho se sienta y jala la cadera de la

hembra hacia él, y pueden permanecer así de 12 a 192 segundos; a esta conducta se le ha denominado de sentado o de candado (Fooden, 1990). Los machos tienen la capacidad de volver a eyacular 12 a 21 minutos después de la eyaculación precedente y logran ejecutar hasta 59 eyaculaciones en 6 horas (Nieuwenhuijsen y col., 1986; Goldfoot y col., 1975). Shively y col., (1982) sugirieron que las múltiples eyaculaciones que se observan en el macho están vinculadas a una competencia intermacho por ganar acceso a las hembras.

Las cópulas están restringidas a las horas de luz y es principalmente el macho alfa quien tiende a monopolizar las cópulas eyaculatorias. Estudios previos han mostrado que del 91 al 100% de los machos alfa (dominantes) fueron los que monopolizaron las montas eyaculatorias y el resto, el macho beta (Fooden, 1990). Los subordinados son capaces de montar a una hembra, pero sólo cuando el alfa no está a la vista, de lo contrario estas montas son interrumpidas agresivamente (Murray y col., 1985). Algunos autores han reportado que en ocasiones los machos pueden forzar a las hembras a copular, por medio de conductas agresivas, cuando éstas no se encuentran receptivas (Roonwal y Mohnot, 1977; De Waal, 1989).

8.4 Relación conducta sexual-ciclo menstrual

En comparación con otras especies de macacos, la cópula en *Macaca arctoides* parece estar menos influida por variaciones hormonales y más por las condiciones sociales y ambientales; sin embargo, los resultados dependen de las condiciones experimentales. Por ejemplo, en estudios de parejas de laboratorio las montas copulatorias se presentan sin relación al ciclo menstrual y en observaciones de colonias en cautiverio, las cópulas se registran con mayor frecuencia con hembras que se encuentran a la mitad del ciclo menstrual (Gooldfoot y col., 1975).

Slob y col., (1978a) en un estudio de parejas de laboratorio observaron que los machos se aparearon con la hembra independientemente de la fase del ciclo en que se encontraba. Además, de tres hembras, los machos mostraron preferencia siempre por la misma, que correspondía a la de rango más dominante. Slob y col., (1978b), en otro estudio de parejas aisladas, observaron que de todos los patrones conductuales sexuales que se registraron, únicamente la presentación perineal por parte de las

hembras mostró un pico a la mitad del ciclo. Esta misma conducta disminuyó significativamente después de la ovariectomía, pero sin cambios en la frecuencia copulatoria.

Por otra parte, Estep y col., (1984) realizaron un estudio en un grupo de monos en cautiverio exterior y evaluaron los efectos de la familiaridad. Estos autores observaron que las cópulas no ocurren de manera frecuente y únicamente los machos alfa y beta copularon hasta alcanzar la eyaculación. También encontraron que los machos mostraron preferencias por ciertas hembras, pero sin relación con el rango social. De sus observaciones conductuales los autores sugieren que los factores críticos para que se lleven a cabo las cópulas en condiciones de grupo, son el contacto visual, el olfatorio y el táctil.

Finalmente, Murray y col., (1985) se concentraron en observar la frecuencia de las cópulas en un grupo de *Macaca arctoides* y encontraron que, contrariamente a lo que se había documentado en otros estudios, la frecuencia de cópulas aumenta en la fase periovulatoria, siendo los machos dominantes los que tuvieron acceso a las hembras durante esta fase. Los demás machos exhibieron frecuencias similares de conductas sexuales en las demás fases del ciclo de las hembras.

Dado que el olfateo perineal de las hembras es una conducta predominante del macho y que las hembras no presentan señales visuales evidentes como en las otras especies de macacos, es posible que los machos obtengan información acerca de la receptividad de la hembra, al olfatear las secreciones vaginales.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la mayoría de los mamíferos, los ciclos hormonales provocan que las hembras sean sexualmente receptivas durante periodos discretos de tiempo, el cual señalan por medio de cambios conductuales, de señales visuales llamativas o de señales olfatorias como las feromonas. En algunos primates como los prosimios y monos del Nuevo Mundo se ha demostrado el uso de las señales olfatorias, como las feromonas, para comunicar la receptividad. Sin embargo, la importancia de este tipo de señales en Monos del Viejo Mundo no ha sido bien estudiada, principalmente en especies que no desarrollan ninguna señal visual prominente de receptividad como por ejemplo *Macaca arctoides*. Por lo tanto, el interés de este trabajo es estudiar, bajo condiciones de grupo social, si al exponer a los machos al olor de las secreciones vaginales hay aumento en la frecuencia conductual sexual y cambios en la concentración de LH, testosterona y cortisol.

HIPÓTESIS

Los machos de *Macaca arctoides* que sean expuestos a secreciones vaginales de las diferentes fases del ciclo, emitirán mayor frecuencia de conductas sexuales cuando las secreciones sean producidas durante la fase periovulatoria, en comparación de cualquier otra fase del ciclo o de solución salina (control neutro). Además, en respuesta a las secreciones vaginales de la fase de receptividad habrá, en los machos, un aumento en la concentración de LH, testosterona y cortisol en comparación con una fase no receptiva o de solución salina.

OBJETIVOS

General

- Evaluar en los machos los efectos conductuales sexuales y endocrinos de las secreciones vaginales de las diferentes fases de ciclo menstrual de las hembras del macaco cola de muñón (*Macaca arctoides*).

Particulares

- Evaluar si en un macho expuesto a las secreciones vaginales, producidas durante las diferentes fases del ciclo menstrual o expuesto a solución salina, ocurren cambios en la respuesta conductual sexual.
- Analizar si la respuesta conductual del macho ante las secreciones vaginales cambia, dependiendo de la fase del ciclo en que se encuentra la hembra o del rango del macho.
- Estudiar si la exposición de un macho al olor de las secreciones vaginales provoca variaciones en la concentración de LH, testosterona o cortisol.

Experimento 1. Efecto de las secreciones vaginales producidas durante las diferentes fases del ciclo menstrual en la frecuencia de las conductas sexuales de los machos.

Justificación

Macaca arctoides es una especie en la que los machos frecuentemente recurren a la inspección olfatoria de la región anogenital de las hembras (Fooden, 1990). Tomando en consideración que las hembras de esta especie son de ovulación escondida, es probable que los machos obtengan información sobre el estado reproductivo, al llevar a cabo una inspección genital. Por ello, para analizar si las secreciones vaginales ejercen un efecto similar a feromonas, primero se decidió estudiar si las secreciones de las diferentes fases del ciclo provocaban cambios en la conducta sexual de los machos. Para ello fue necesario presentarles el olor de cada fase y observar su respuesta en presencia de otras hembras, diferentes de la donadora de las secreciones y compararla con la respuesta ante una sustancia de olor neutro como la solución salina. En este experimento nos enfocamos a registrar las conductas de inspección sexual, las de agresión sexual (aquellas conductas encaminadas a forzar una cópula) y las de monta copulatoria.

Los objetivos específicos de este experimento fueron:

- Analizar la conducta sexual de los machos después de recibir secreciones vaginales o solución salina.
- Comparar la respuesta conductual sexual del macho ante las secreciones de las diferentes fases del ciclo menstrual.
- Analizar si la respuesta conductual es dependiente del rango del macho o de la hembra donadora.

MÉTODO

Sujetos y alojamiento

Se utilizaron cinco machos y cinco hembras adultos de Macaco cola de muñón de la especie *Macaca arctoides* (en la Tabla 1 se muestran los sujetos utilizados, su edad y su rango). Estos monos son parte de una colonia de 29 individuos que se encuentra alojada en condiciones de cautiverio exterior, en el Departamento de Etología del Instituto Nacional de Psiquiatría y son mantenidos en tres jaulas grandes (6 x 6.2 x 6 m cada una) que se conectan entre sí y están cubiertas por la parte del techo con una malla de alambre. Diariamente, entre las 9:00 y las 10:00 AM, los animales reciben como alimento: frutas frescas, vegetales y dieta comercial Monkey Diet 5038 (Lab Diet, PMI Feeds, ICN, E.U.A.) para monos del Viejo Mundo y agua disponible *ad libitum*.

Las manipulaciones de los animales, se llevaron a cabo tomando en consideración las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio y de la Norma Oficial Mexicana para Las especificaciones técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO 1999).

Tabla 1. Nombre y edad (al momento del experimento) de los monos utilizados. El valor 1 del rango indica el individuo más dominante y el 5 el más subordinado.

Hembra	Edad (años)	Rango (Ordinal)	Macho	Edad (años)	Rango (Ordinal)
Isabel	18	2	Tato	19	5
Nuria	17	5	Esdras	13	3
Cuca	16	4	Alef	13	1
Aura	14	1	Galleto	9	4
Rita	11	3	Jairo	9	2

Obtención de las secreciones vaginales

Primero había que condicionar a las hembras para poder tomar los frotis vaginales, para lo cual se siguió el siguiente procedimiento. Las hembras fueron inducidas, por medio de incentivos (dulces), a entrar a una jaula de alambre pequeña de

1.5 x 1 x 1 m que se conecta a su jaula hogar, sin necesidad de encerrarlas. Una vez dentro, las hembras fueron condicionadas para realizar la conducta de presentación perineal al observador cada vez que se les mostrara un hisopo y un dulce. Durante el entrenamiento (aproximadamente 4 meses) no se encerró a ninguna hembra, de manera que todo el tiempo tuvieron libre acceso a la jaula para no presionarlas. Una vez que la hembra adoptaba la posición, se introdujo un hisopo de algodón en la vagina para así obtener la muestra. Es importante mencionar que únicamente se trabajó con las cinco hembras, que al ser posteriormente aisladas de su jaula hogar para los experimentos, se mostraron cooperativas, de esta manera no se forzó a ninguna de ellas, para minimizar el estrés del encierro. Además, sólo se utilizaron aquellas hembras que presentaron un ciclo menstrual normal, es decir, sangrado cada 28-32 días.

Caracterización del ciclo menstrual de las macacas

La fase del ciclo en que se encontraba la hembra se determinó por medio del análisis microscópico de las citologías vaginales, que fueron teñidas por medio de la técnica tricrómica de Shorr (Lencioni, 1971). Brevemente, la técnica de tinción consiste en sumergir la muestra 30 segundos en hematoxilina, después se enjuaga con agua, en seguida se sumerge un minuto en solución de Shorr y se enjuaga nuevamente con agua. Después, la muestra se deshidrata con alcohol al 70%, después al 96% y al 100%. Finalmente, para su fijación se sumerge un minuto en xilol y para su observación al microscopio se adiciona una gota de resina sintética y se cubre con un cubreobjetos.

Cuatro de las hembras adultas que se utilizaron para este experimento, presentaron ciclos menstruales regulares de aproximadamente 29-30 días; la otra hembra (Isabel) al ser aislada tuvo un ciclo de 40 días. Las fases del ciclo se agruparon, de acuerdo con la citología vaginal en: menstruación, folicular, periovulatoria, lútea temprana y lútea tardía. La fase lútea se dividió en temprana y tardía ya que en *Macaca arctoides* se ha descrito la ocurrencia de un segundo pico de estradiol (aunque de menor concentración) aproximadamente cinco días después del preovulatorio (Wilks, 1977). Esta elevación hormonal se refleja en la citología vaginal por una reaparición de

células de descamación y superficiales características de la fase periovulatoria. Se consideraron los cinco días antes de la menstruación como lútea tardía.

Se tomaron muestras de heces fecales diariamente de cada hembra durante el tiempo que permaneció aislada. Las heces se utilizaron para extraer estrona y así corroborar las fases del ciclo. Se utilizó la técnica de Matsumuro y col., (1999) para cuantificar estradiol 17- β . Sin embargo, al llevar a cabo la técnica con la primera hembra, no obtuvimos resultados, pues casi en todos los casos la medición fue cero. De acuerdo a Schwarzenberger y col., (1996) uno de los metabolitos de estrógenos que puede encontrarse en las heces es la estrona, por ello, con las demás hembras se cuantificó estrona con mejores resultados.

Para saber qué porcentaje de hormona se recuperó con la técnica, al momento de la extracción, se utilizaron 10 muestras fecales a las que se adicionó hormona marcada (12000 cpm 125 I) desde el comienzo del procedimiento. El porcentaje de cuentas recuperadas fue de $27.69 \pm 0.760\%$, que resulta un poco bajo, sin embargo nos permitió corroborar la división de las fases del ciclo menstrual. La diferencia intra-individual la calculamos por medio del coeficiente de variación: 8.687%. La concentración de estrona de las muestras se midió utilizando kits comerciales para RIA (ICN Pharmaceuticals, Inc. E.U.A.).

Determinación de los Rangos de Dominancia

Antes de comenzar los experimentos, diariamente por una hora y durante seis meses, se llevaron a cabo muestreos focales de los animales (Martin y Bateson, 1986). Para estimar los rangos cardinales (Boyd y Silk, 1983), se cuantificó la frecuencia de conductas de agresión y sumisión recibidas en confrontaciones (las conductas se muestran en la tabla 2). Los datos se incluyeron en un programa elaborado por Ricardo Mondragón Ceballos para calcular los índices de dominancia.

Tabla 2. Conductas agresivas y sumisivas de *Macaca arctoides* consideradas en la determinación de los rangos de dominancia.

Agresión	Sumisión
Cara de amenaza	Agazapado
Cara de amenaza con dientes	Encogido
Cara de amenaza con boca abierta	Evita
Prende	Presentación pudenda inhibitoria
Finta	Congelamiento
Empuja	Desvía mirada
Golpea	Revolverse
Bofetada	Presentación frontal
Muerde	Presentación lateral
Persigue	Huye
Lucha	Chillido
Manotazo en objeto	
Pone dientes	
Busca cara	
Busca cara con castañeteo	
Sostiene mirada	
Jala	
Sacude	

Procedimiento experimental

Las hembras donadoras de secreción vaginal estuvieron aisladas del grupo durante un ciclo menstrual, para facilitar el seguimiento del ciclo y para evitar que el olor fuera identificado, principalmente cuando éstas se encontraran en la fase periovulatoria. De esta manera, los registros conductuales de los machos se realizaron dentro de la colonia sin la hembra donadora aislada. El procedimiento se llevó a cabo de esta forma, puesto que era importante observar bajo un contexto social si existía un aumento en las conductas sexuales y de exploración olfatoria hacia otras hembras, pero sin el sesgo de la hembra donadora, sobre todo cuando ésta estuviera en la fase periovulatoria. Asimismo, se tomó en consideración que al colocar parejas aisladas, los machos copulan continuamente con las hembras, independientemente de la condición hormonal

y la fase del ciclo (Slob y col., 1978b). Sin embargo, en condiciones de colonia en semi-cautiverio se registra una frecuencia máxima de cópulas cuando las hembras están a la mitad del ciclo menstrual (Murray, y col., 1985). Por lo anterior, se descartó la posibilidad de aislar al macho o de trabajar con parejas aisladas.

En todos los casos se esperó a que la hembra presentara el sangrado menstrual, para comenzar con el día 1 del ciclo. Los hisopos con las muestras vaginales (tomadas aproximadamente de dos a cinco minutos antes del registro) o con solución salina, se utilizaron para dárselas a los machos y observar las respuestas conductuales. Primero, se acercó la jaula que se conecta a la jaula hogar, cuando uno de los cinco machos entró a la jaula (no siempre se acercaron en el mismo orden), se le dio en la mano dos hisopos con secreción vaginal o solución salina. Los machos, al recibir los hisopos, inmediatamente los olfatearon y a veces los lamieron. En cuanto el macho salió de la jaula (el tiempo varió entre dos o cinco segundos), comenzó el registro focal de video ya con el macho dentro del grupo durante 30 minutos. Este registro se llevó a cabo con una cámara que estaba preparada para videogravar en cuanto el macho estuviera en el grupo y que se ubicaba en un observatorio desde donde es posible apreciar a todos los animales. Cada macho recibió tres veces muestras de cada una de las cinco fases del ciclo menstrual de cada hembra y el mismo número de veces con solución salina, que se utilizó como control de cada registro.

En estudios de conducta sexual en esta especie, los registros duran de 20 a 30 minutos (Slob y col., 1978a y 1978b), por lo cual, en este trabajo se consideró que 30 minutos era un tiempo adecuado para registrar la conducta del macho en respuesta las secreciones vaginales. Posteriormente, se llevó a cabo el registro de la frecuencia de las siguientes conductas agrupadas en 3 categorías sexuales:

- Exploración de genitales: olfateo e inspección perineal.
- Agresión sexual: intento de monta, jalón de cadera, persecución de una hembra, manotazo de cadera.
- Montas: monta no eyaculatoria, monta eyaculatoria.

Estas conductas se encuentran dentro de la categoría sexual del etograma elaborado para esta especie. A continuación, se define cada una de las conductas

sexuales registradas en este experimento, adaptadas de las definiciones de Estep y col., (1984).

Exploración:

Olfateo de genitales: acercar el rostro y dirigir la mirada hacia la región genital, para olfatear, pero sin llegar a manipular los genitales.

Inspección de genitales: dirigir la mirada y tocar la región genital, introducir un dedo de la mano para manipular e inspeccionar la vagina (en ocasiones puede ser en la región anal) de otro individuo.

Agresión sexual:

Jalón de cadera: Alcanzar la cadera de una hembra y jalarla hacia él, hasta que la hembra queda en posición de monta.

Intento de monta: contacto ventrodorsal generalmente heterosexual, acompañado de un jalón de cadera o del pelo dorsal o de la piel, para encimarse en los tobillos del receptor, pero sin que se lleguen a realizar movimientos pélvicos conducentes a la intromisión.

Manotazo de cadera: toque agresivo de cadera, con la finalidad de que la hembra presente las caderas.

Persecución: el macho sigue a la hembra a paso rápido, generalmente para olfatearla, inspeccionarla o jalarla para intentar montarla.

Montas:

Monta no eyaculatoria: contacto ventrodorsal generalmente heterosexual, acompañado de un jalón de cadera o del pelo dorsal o de la piel, para encimarse en los tobillos del receptor. El emisor lleva a cabo, junto con la intromisión, movimientos pélvicos sin alcanzar la eyaculación.

Monta eyaculatoria: es la monta de un individuo, en la que el emisor lleva a cabo, junto con la intromisión, movimientos pélvicos hasta alcanzar la eyaculación. La monta eyaculatoria culmina después del candado poseyaculatorio.

Aparte de la frecuencia conductual, también se evaluó la duración de las conductas (en segundos) y el tiempo que tardaron los machos en presentar la primer conducta sexual (latencia).

Los registros conductuales (de cuatro a cinco por día) se realizaron entre las 10:00-13:00 h y por la tarde entre las 17:00-18:00 PM. Este horario se debe a que

diariamente, las jaulas de los monos son aseadas de las 8:00 a las 10:00 AM; por la tarde entre las 13:00 y las 17:00 h generalmente los monos son poco activos y descansan, se asean o buscan alimento (Roonwal y Mohnot, 1977). Se tomó muy en cuenta la actividad diaria de los animales en la colonia porque cuando reciben el alimento, difícilmente se les puede manipular dado que centran su atención en la comida. Al medio día es muy común observar a los monos durmiendo y descansando (Fooden, 1990), lo que dificulta acercarlos a la jaula de restricción, aun con incentivos. Como cada fase del ciclo dura varios días, dio tiempo para registrar 3 veces a cada macho. Si un macho no alcanzó a entrar en el experimento, porque no cooperó, se esperó a que la hembra nuevamente entrara a la fase faltante.

Análisis estadístico

Debido a que el número de conductas de cada macho, emitidas durante los 30 minutos de registro fue muy baja, se decidió trabajar con la frecuencia total por categoría: exploración de genitales, agresión sexual y montas. Para tener un análisis balanceado, se agrupó el total de la frecuencia de cada categoría conductual por cada macho y por cada fase del ciclo de cada hembra. Lo mismo se hizo para analizar los tiempos de latencia y la duración de las conductas. Para analizar las diferencias entre fases del ciclo, los datos se sometieron a un análisis de varianza por rangos de Friedman, seguido de comparaciones pareadas por medio de la prueba de rangos de Wilcoxon. La variable dependiente fue la frecuencia conductual o el tiempo de la duración y la latencia. El tiempo de latencia se presenta en escala logarítmica (el tiempo máximo son 1800 segundos o 30 minutos). Para evaluar las diferencias individuales, dado que tanto las hembras como los machos tienen diferentes rangos sociales, se utilizó un análisis de varianza para muestras independientes de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney. En todos los casos los datos se representaron como medianas y rango percentil (distribución del 75% de los datos). Todas las pruebas fueron de dos colas y el nivel de significancia se estableció a $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

Efecto de la solución salina

Antes de analizar el efecto de las secreciones vaginales en las diferentes fases del ciclo, primero se analizó la frecuencia de conductas ante la solución salina, para averiguar si había diferencias entre los individuos. Para ello, los datos se sometieron a un análisis de varianza de muestras repetidas por rangos de Friedman. El análisis de las frecuencias conductuales mostró que tanto para la categoría de conductas de exploración de genitales, como para las de agresión sexual no hubo diferencias cuando los machos se sometieron a hisopos con solución salina (exploración de genitales: $\chi^2=11.02$, g.l.=4, 25, $P=0.26$; coerción: $\chi^2=6.543$, g.l.=4, 25, $P=0.162$). Lo mismo ocurrió al analizar el tiempo de latencia a la primer conducta para ambas categorías (Exploración de genitales: $\chi^2=1.140$, g.l.=4, 25, $P<0.887$; Agresión sexual: $\chi^2=4.232$, g.l.=4, 25, $P<0.375$) y la duración (Exploración de genitales: $\chi^2=3.321739$, g.l.=4, 25, $P=0.50550$; Agresión sexual: $\chi^2=3.601$, g.l.=4, 25, $P=0.462$).

Dado que no hubo diferencias en la respuesta de los machos ante la solución salina al comparar todos los ensayos, para el resto de los análisis y gráficos se decidió utilizar el promedio de la frecuencia ante la solución salina, como si fuera una fase más del ciclo.

Efecto de las secreciones vaginales en las diferentes fases del ciclo

Frecuencia de las conductas de exploración de genitales

Las conductas de exploración de genitales variaron de manera significativa con respecto a las fases del ciclo menstrual y a la solución salina ($\chi^2=21.428$, g.l.=5, 25, $P<0.001$). Las comparaciones pareadas mostraron que la frecuencia conductual fue mayor con las secreciones de las fases de menstruación, folicular, periovulatoria y lútea temprana ($Z=2.354$, $n=25$, $P=0.018$; $Z=3.44$, $n=25$, $P<0.001$, $Z=3.908$, $n=25$, $P<0.001$; $Z=2.678$, $n=25$, $P=0.007$, respectivamente) en comparación con la solución salina

(Figura 2). Por otro lado, la respuesta conductual con secreciones de la fases lútea tardía fue similar a la de solución salina ($Z= 0.821$, $n=25$, $P=0.411$).

Debido a que la fase de interés es la fase periovulatoria, por estar vinculada a la receptividad y la ovulación, se llevó a cabo la comparación de sus efectos con respecto de las demás fases. Esta comparación mostró que la conducta exploratoria en respuesta al olor de secreciones en la fase preiovulatoria fue significativamente mayor a la respuesta con las fases menstruación ($Z=2.35$, $n= 25$, $P=0.02$), lútea temprana ($Z=2.445$, $n=25$, $P=0.01$) y lútea tardía ($Z=2.034$, $n=25$, $P=0.04$). La respuesta de los machos ante las secreciones de la fase folicular fue similar a la fase periovulatoria ($Z=1.025$, $n=25$, $P=0.305$) (Figura 2).

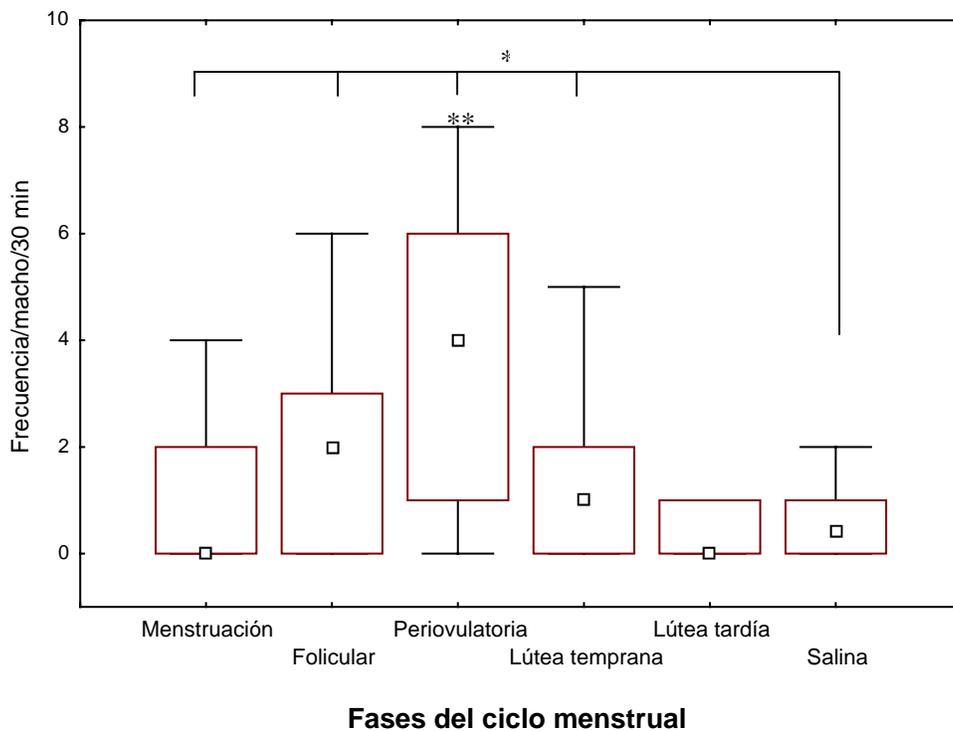


Figura 2. Frecuencia de las conductas de exploración de genitales exhibidas por cinco machos, en respuesta a la secreción vaginal de cinco hembras en las diferentes fases del ciclo menstrual. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * Comparaciones vs. Salina: $P<0.001$ vs. Periovulatoria y Folicular; $P=0.018$ vs. Menstruación; $P=0.007$ vs. Lútea temprana. **Comparaciones vs. Periovulatoria: $P=0.02$ vs. Menstruación; $P=0.01$ vs. Lútea temprana; $P=0.04$ vs. Lútea tardía.

Latencia a la primera conducta de exploración de genitales

Para determinar si además de mayor frecuencia de conductas de exploración sexual, los machos se vieron motivados más rápidamente a emitir las conductas ante el olor de las secreciones vaginales, se analizó el tiempo que los machos tardaron en presentar la primera exploración genital. El análisis mostró que sólo hubo una tendencia a que el tiempo fuera diferente entre fases del ciclo, incluida solución salina ($\chi^2=10.286$, g.l.=4, 25, $P<0.06$). En la figura 3 se muestra que sólo hubo una tendencia a que los machos emitieran más rápidamente una conducta de exploración de genitales cuando la secreción vaginal provino de las fases folicular y periovulatoria.

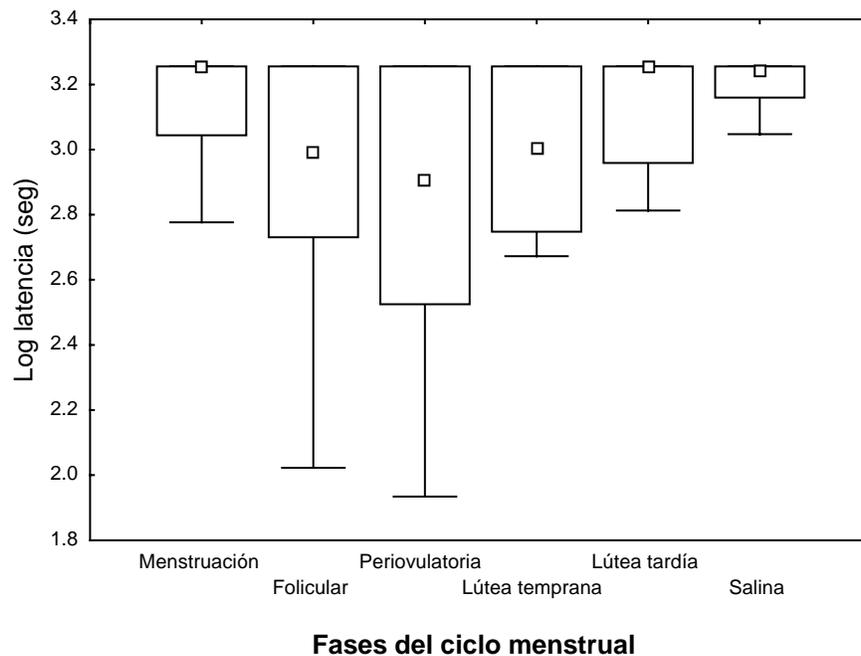


Figura 3. Latencia a la primera conducta de exploración de genitales exhibidas por cinco machos, en respuesta a la secreción vaginal de cinco hembras en las diferentes fases del ciclo menstrual. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones.

Duración de las conductas de exploración de genitales

La duración de las conductas de exploración sexual varió significativamente entre las fases del ciclo incluido el efecto de la salina ($\chi^2 = 22.09413$, g.l.=4, 25, $P= 0.005$). La

duración de las conductas en respuesta a la solución salina fue significativamente menor en comparación sólo con las fases folicular ($Z=2.656$, g.l.=25, $P=0.007$), periovulatoria ($Z=3.360$, g.l.=25, $P=0.0007$) y lútea temprana ($Z=2.386$, g.l.=25, $P=0.01$). Estas comparaciones se observan en la figura 4. La comparación entre fases del ciclo mostró que la fase periovulatoria fue diferente de menstruación ($Z=2.763$, g.l.=25, $P=0.005$) lútea temprana ($Z=2.80$, g.l.=25, $P=0.004$) y tardía ($Z=2.2.986$, g.l.=25, $P=0.002$).

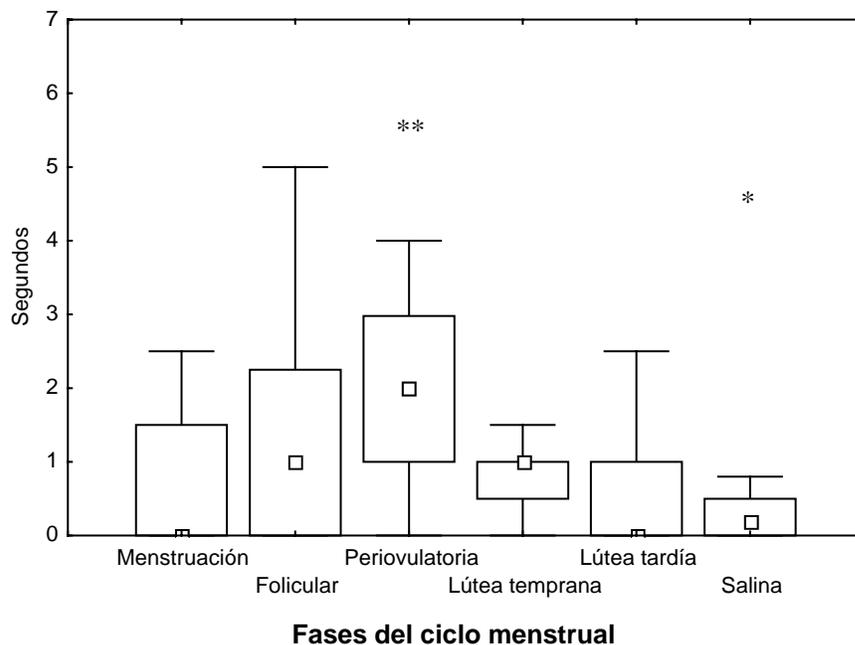


Figura 4. Duración de las conductas de exploración de genitales de cinco machos en respuesta a las secreciones vaginales de cinco hembras. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * $P=0.007$ vs. Folicular, $P=0.0007$ vs. Periovulatoria, $P=0.01$ vs. Lútea temprana. ** $P=0.005$ vs. Menstruación, $P=0.004$ vs. Lútea temprana, $P=0.002$ vs. Lútea tardía.

Frecuencia de las conductas de agresión sexual

En general, la frecuencia de las conductas encaminadas a forzar una cópula fue muy baja. Sin embargo el análisis estadístico mostró una variación significativa de la conducta dependiendo de la fase del ciclo (incluido el efecto de salina) ($\chi^2= 34.665$,

g.l.=5, 25, $P<0.001$). El análisis pareado indicó que únicamente las secreciones de las fases menstruación y folicular promovieron significativamente mayor frecuencia conductual que el control de salina ($Z=3.076$, $n=25$, $P=0.002$; $Z=2.395$, $n=25$, $P=0.01$, respectivamente). Al llevar a cabo la comparación de la respuesta ante las secreciones de la fase periovulatoria y las demás fases del ciclo, se encontró que las conductas de agresión fueron mayores con respecto de todas las fases (menstruación: $Z=3.077$, $n=25$, $P=0.002$; folicular: $Z=2.118$, $n=25$, $P=0.03$; lútea temprana: $Z=2.803$, $n=25$, $P=0.005$; lútea tardía: $Z=2.071$, $n=25$, $P=0.03$). Estas comparaciones se pueden apreciar en la figura 5.

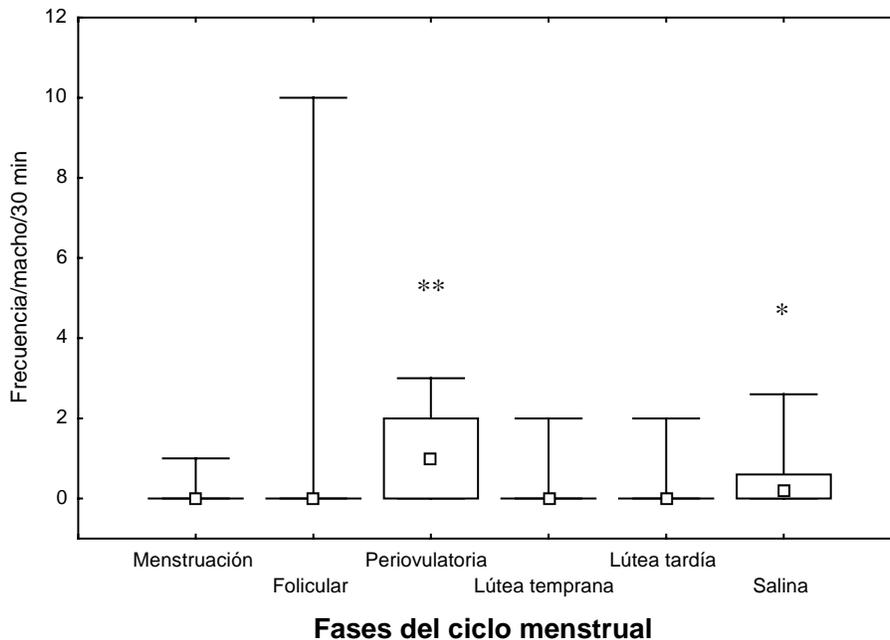


Figura 5. Frecuencia de las conductas de agresión sexual exhibidas por cinco machos, en respuesta a la secreción vaginal de cinco hembras en las diferentes fases del ciclo menstrual. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * Salina vs. Menstruación $P<0.002$, * Salina vs. Folicular $P<0.01$. ** Comparaciones con Periovulatoria: $P=0.002$ vs. Menstruación, $P=0.034$ vs. Folicular, $P=0.005$ vs. Lútea temprana, $P=0.03$ vs. Lútea tardía.

Latencia a la primera conducta de agresión sexual y duración

El tiempo que los machos tardaron en dirigir una conducta de agresión sexual en respuesta a secreciones vaginales de las diferentes fases del ciclo o solución salina no

mostró diferencia significativa ($\chi^2= 7.380$, g.l.=4, 25, $P<0.193$). Sin embargo, el tiempo que los machos invirtieron en cada conducta si varió de manera significativa ($\chi^2 = 65.777$, g.l.=4, 25, $P< 0.001$). En la figura 6 se muestra que la duración de las conductas ante las secreciones vaginales fue en general mayor que ante la solución salina ($Z=4.372$, g.l.=25, $P<0.001$ vs. Menstruación; $Z=4.372$, g.l.=25, $P<0.001$ vs. Folicular; $Z=4.318$, g.l.=25, $P<0.001$ vs. Periovulatoria; $Z=4.372$, g.l.=25, $P<0.001$ vs. Lútea temprana; $Z=4.372$, g.l.=25, $P<0.001$ vs. Lútea tardía). Por otra parte, cuando los machos recibieron hispos con secreciones vaginales de las fases folicular y periovulatoria invirtieron significativamente más tiempo en agredir a las hembras sólo en comparación con el olor de la fase lútea tardía ($Z=2.555$, g.l.=25, $P=0.01$, $Z=1.971$, g.l.=25, $P=0.04$, respectivamente).

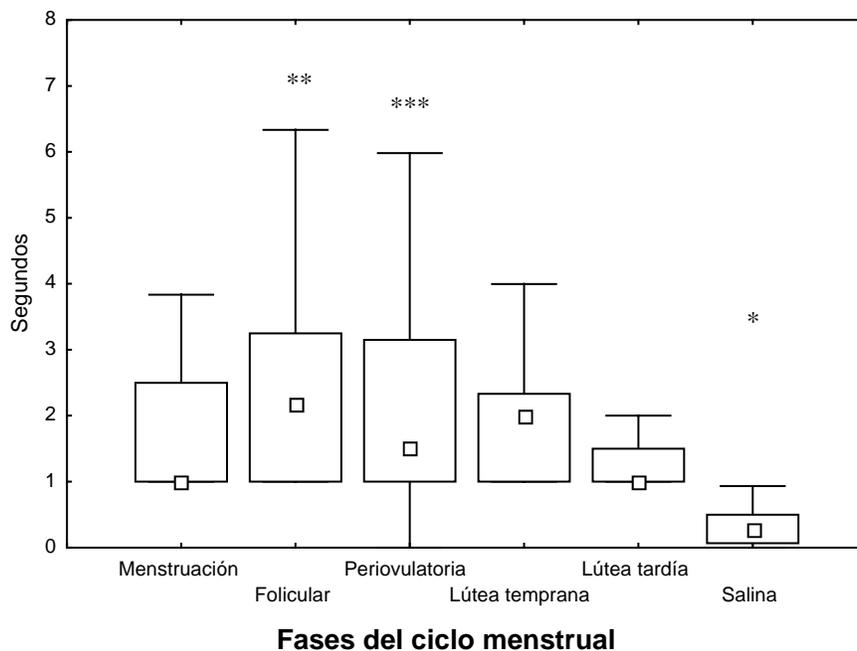


Figura 6. Duración de las conductas de agresión sexual de cinco machos en respuesta a las secreciones vaginales de cinco hembras. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * $P<0.001$ vs. Todas las fases. ** $P=0.01$ vs. Lútea tardía, *** $P=0.04$ vs. Lútea tardía.

Efecto de las hembras donadoras

Además de las fases del ciclo, se encontró un efecto significativo de la hembra donadora de las secreciones vaginales sobre las conductas de exploración sexual ($\chi^2=16.116$, g.l.=4, $P=0.002$), pero no para las de agresión sexual ($\chi^2=6.909336$, g.l.=4, $P<0.1408$). Como esto es indicativo de variaciones individuales, a continuación se muestran cuáles fueron las hembras que contribuyeron a que los machos desplegaran mayor frecuencia de conductas.

Como puede observarse en la figura 7 las conductas exploratorias promovidas por Cuca fueron significativamente mayores en comparación con todas las hembras con excepción de Isabel (Isabel: $Z=1.344$, g.l.=50, $P=0.180$ NS; Nuria: $Z=2.571$, g.l.=50, $P=0.009$; Rita: $Z=2.802$, g.l.=50, $P=0.004$; Aura: $Z=3.708$, g.l.=50, $P=0.001$). Seguido de Cuca, la hembra que provocó mayor efecto fue Isabel, aunque la diferencia alcanzó valores significativos sólo con respecto a Aura (Aura: $Z=2.426$, g.l.=50, $P=0.014$; Nuria: $Z=1.120$, g.l.=50, $P=0.263$ NS; Rita: $Z=1.540$, g.l.=50, $P=0.123$ NS). Es importante destacar que de las cinco hembras, Cuca es la que más crías ha tenido.

Aunque Cuca e Isabel son las hembras de mayor edad, no se encontró una correlación significativa entre la frecuencia conductual y la edad (Rangos de Spearman: $r_s=0.700$, $N=5$, $P=0.17$). El valor del coeficiente es relativamente alto, no obstante, la falta de correlación seguramente se debe a que sólo se trabajó con cinco hembras. Tampoco se encontró una correlación con el rango social de las hembras ($r_s=0.600$, $N=5$, $P=0.28$).

Para investigar si estas diferencias tenían que ver con alguna variación individual en la concentración de estrona fecal, realizamos un análisis general lineal de modelo anidado, en el que se incluyó la concentración hormonal de cada una de las fases del ciclo. Los valores anidados fueron los correspondientes a cada concentración por día, agrupados en cada una de las fases, para cada una de las hembras. Este análisis mostró que únicamente había variación significativa en función del día del ciclo ($F=2.760$, g.l.= 4/58, $P=0.04$), lo que resulta lógico pensando en las fluctuaciones normales que se presentan en un ciclo menstrual. No se encontró un efecto de la

hembra ($F=1.322$, g.l.= 4/58, $P= 0.275$), lo que sugiere que entre ellas, las fluctuaciones fueron similares.

Efecto de los machos

Al igual que ocurrió con las hembras, los machos también manifestaron diferencias individuales en la frecuencia de conductas de exploración ($\chi^2= 26.107$, g.l.=4, $P<0.001$) que además se reflejaron en una correlación negativa causada por el rango de dominancia ($r_s=-0.820$, $N= 5$, $P=0.050$). No se observaron diferencias en las conductas de agresión sexual hacia las hembras ($\chi^2=6.909$, g.l.=4, $P=0.14$).

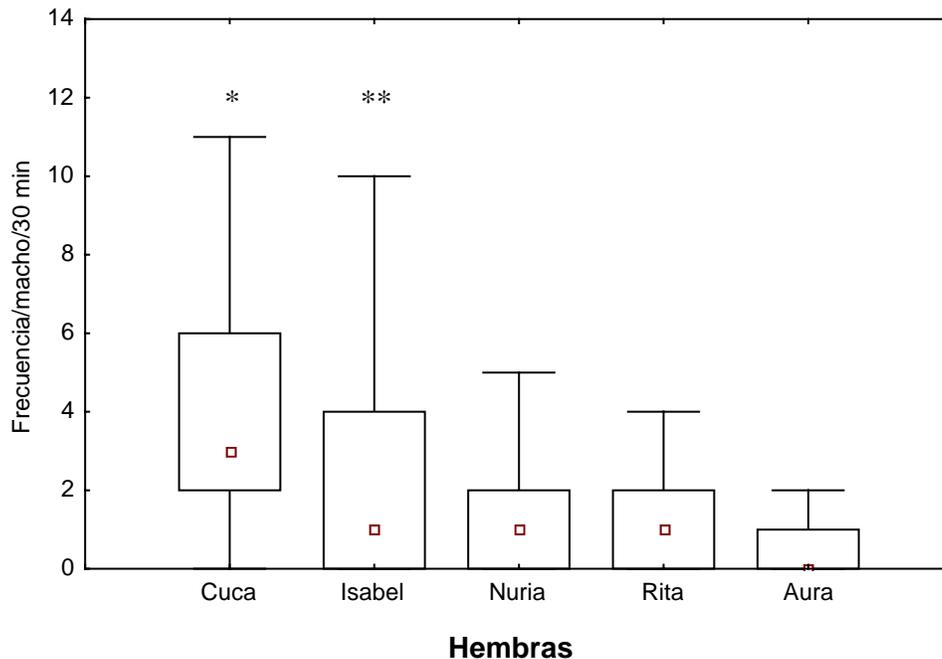


Figura 7. Frecuencia de las conductas de exploración sexual exhibidas por cinco machos, en respuesta a la secreción vaginal de cinco hembras. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * $P< 0.009$ vs. Nuria, $P=0.004$ vs. Rita, $P< 0.001$ vs. Aura. ** $P= 0.014$ vs. Aura.

Durante los experimentos Aleph, el macho alfa, se comportó de manera similar con respecto a Jairo y Esdras ($Z=0.309$, g.l.=50, $P=0.770$; $Z=0.498$, g.l.=50, $P=0.638$, respectivamente), cuyos rangos son similares (beta). Sin embargo, Aleph desplegó

mayor frecuencia conductual que los dos machos de más bajo rango (Galleto: $Z=3.308$, g.l.= 50, $P=0.002$; Tato: $Z=4.259$, g.l.=50, $P<0.001$). De la misma forma, Jairo, quien le sigue en rango a Aleph, mostró mayor frecuencia conductual que Galleto y Tato ($Z=2.877$, g.l.= 50, $P=0.009$; $Z=3.903$, g.l.= 50, $P<0.001$, respectivamente). También Esdras, mostró más conductas exploratorias con respecto de los mismos dos machos (Galleto: $Z=2.356$, g.l.= 50, $P=0.03$; Tato: $Z=3.386$, g.l.= 50, $P=0.004$). Entre Jairo y Esdras no hubo diferencias significativas ($Z=-0.157$, g.l.= 50, $P=0.882$), ni tampoco entre Galleto y Tato ($Z=-1.322$, g.l.= 50, $P=0.324$). Esto muestra que las diferencias en rango sólo fueron notorias entre los tres machos de rango alto y los dos de más bajo rango (ver Figura 8).

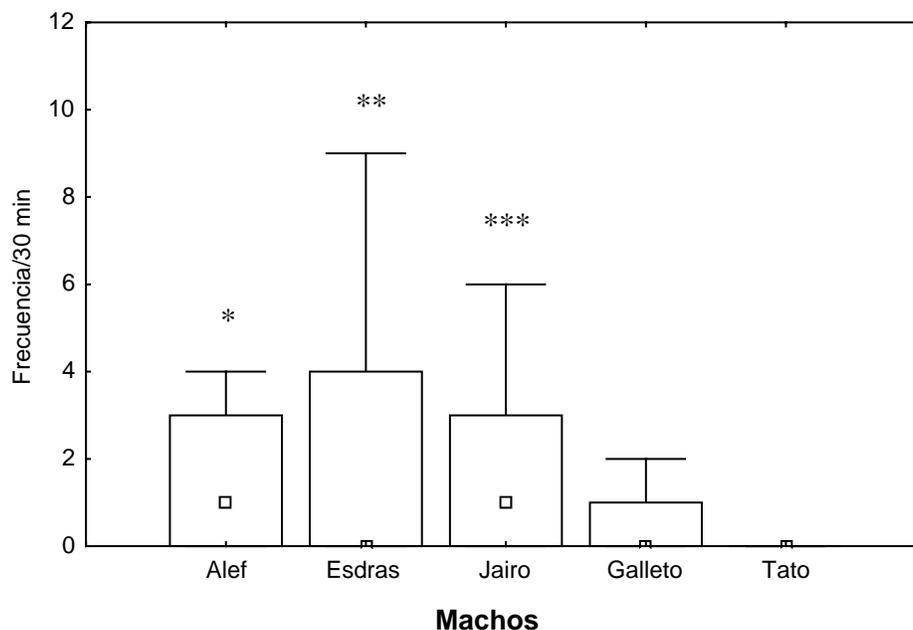


Figura 8. Frecuencia de las conductas de exploración sexual exhibidas por cinco machos, en respuesta a la secreción vaginal de cinco hembras. Las cajas representan la distribución del 75% de los datos, el cuadrado al centro las medianas y las líneas verticales el rango de las distribuciones. * $P=0.002$ vs. Galleto, $P<0.001$ vs. Tato. ** $P=0.03$ vs. Galleto, $P<0.004$ vs. Tato. *** $P<0.009$ vs. Galleto, $P=0.001$ vs. Tato.

Montas

En total ocurrieron dieciséis montas después de la exposición a las secreciones vaginales (sin importar la fase del ciclo menstrual, ni la hembra), de las cuales cuatro

fueron montas completas, es decir, que culminaron en eyaculación. De estas montas el 50% estuvieron dirigidas a otro macho y no a hembras. Contrariamente, sólo cinco ocurrieron después de que los machos recibieron hisopos con solución salina, tres culminaron en eyaculación y estuvieron dirigidas a machos. Todos los machos con excepción de Tato, el omega, exhibieron montas.

Como la frecuencia de las montas fue muy baja, se llevó a cabo una prueba binomial para analizar si había algún efecto de las secreciones vaginales. Los resultados del análisis mostraron que el mayor número de montas ocurrió después de la exposición a las secreciones vaginales (prueba binomial: $P=0.013$).

DISCUSION

Los resultados de este estudio mostraron que las secreciones vaginales de las hembras de *Macaca arctoides* provocaron aumento en las conductas de exploración genital, y en menor proporción en las de agresión sexual, en contraste con una sustancia neutra como la solución salina. Además, el interés que el macho mostró en explorar la región perineal de las hembras fue mayor cuando los olores provinieron de la fase periovulatoria y en menor grado cuando se obtuvieron de folicular o lútea temprana. Esto se vio apoyado al observar que la duración de las conductas fue mayor con las mismas fases, en especial periovulatoria y en la tendencia de los machos a presentar más rápido las conductas. La respuesta fue similar cuando se trató de olores en menstruación, de lútea tardía y solución salina. Por otra parte, las conductas encaminadas a forzar a las hembras para llevar a cabo inspecciones e intentos de monta también fueron mayores sólo en respuesta a la fase periovulatoria.

Esto podría indicar que las secreciones vaginales en *Macaca arctoides* pueden contener compuestos atrayentes, como se ha reportado para otras especies como el mono rhesus (Michael y Zumpe, 1982; Mora y col., 1990) y las marmosetas (Smith y Abbott, 1998). Los resultados de este experimento sugieren que las secreciones vaginales, o alguno de sus componentes, pueden señalar la atractividad, pues desde la fase folicular vemos que hay respuesta de atracción por parte de los machos. Sin embargo, los resultados apoyan sólo de manera parcial, el que las secreciones vaginales también puedan ser una señal de receptividad, pues se trata de un evento que implica la disposición de la hembra para aceptar una cópula y la hembra donadora no estaba presente. Esto en parte podría explicar porqué no se registraron montas copulatorias durante los experimentos.

En general, el hallazgo que nos conduce a apoyar la idea que las secreciones vaginales pueden actuar como atrayentes sexuales es el hecho de haber registrado la mayor frecuencia y duración de conductas de exploración de genitales con muestras de la fase periovulatoria, que se asocia a la receptividad y la ovulación. Sin embargo, estas conductas no se acompañaron por montas copulatorias completas a hembras. Esto

podemos interpretarlo como la poca disposición de las hembras no donadoras, para cooperar con los machos, así como la inhabilidad sólo de la percepción del “olor” del hisopo en hacer que los machos, en especial de los de bajo rango, se vieran lo suficientemente estimulados como para aproximarse a las hembras y explorarlas, a pesar del riesgo que implica acercarse a ellas en presencia de machos dominantes.

Otro de los hallazgos de este trabajo fue que los machos dominantes mostraron la mayoría de las conductas de exploración de genitales, hecho que es común para esta especie (Murray y col., 1985). Es bien sabido que la frecuencia de montas copulatorias en grupos de macaco cola de muñón, está asociada al estado reproductivo de la hembra, siendo los machos dominantes los que monopolizan a las hembras receptivas (Slob y col., 1978b; Murray y col., 1985). Sin embargo, nadie ha investigado la importancia de la comunicación olfatoria o de alguna posible interacción con otros tipos de señales, que los machos usen para detectar la condición reproductiva de las hembras. Slob y col., (1987b) y Murray y col., (1985) también describieron que los machos tienden a explorar más a las hembras cuando se encuentran en la fase periovulatoria, lo que en este trabajo hizo pensar que el olor (y el mensaje que se percibe en él) pudiera ser diferente dependiendo de las fases del ciclo. Sin embargo, en este estudio un factor de confusión fue que al proporcionar el hisopo al macho, la información podría quedar rápidamente enmascarada por la mezcla de olores de los demás individuos del grupo.

Para los machos de *Macaca arctoides*, podría ser de especial importancia detectar la receptividad de las hembras por medios olfatorios o conductuales, dado que éstas son de ovulación escondida, es decir, carecen de la hinchazón prominente de los genitales, característica de los Cercopithecinos (Fooden, 1990). Al respecto, de la familia de los Cercopithecinos, los géneros *Cercocebus*, *Papio*, *Mandrillus* y *Theropithecus* exhiben tal hinchazón, sin embargo, dentro de los macacos el grupo de los arctoides (*M. arctoides*, *M. assamensis*, *M. fuscata*, *M. sinica*, *M. thibetana*, *M. radiata*) tampoco la presentan (Nunn, 1999). De acuerdo a la explicación filogenética sugerida por van Schaik y col., (1999) y Nunn (1999), esta característica parece haber estado presente en el ancestro común del grupo arctoides y después se perdió.

Algunos autores han planteado posibles explicaciones de haber perdido el carácter y como consecuencia el “esconder la ovulación”. Una de las explicaciones es la propuesta por Hrdy (1979, 1981) para el mono verde y las mujeres; esta autora plantea que se trata de una estrategia de la hembra para confundir la paternidad y así evitar el infanticidio (Andelman, 1987; Hrdy, 1981). Esta hipótesis podría aplicarse a *Macaca arctoides*, dado que no se ha reportado ningún caso de infanticidio y contrariamente los machos son muy tolerantes con los infantes, aunque no sean sus propias crías (Estrada, 1984).

De manera alternativa, algunos autores han planteado que no anunciar de manera conspicua la ovulación reduce los costos energéticos que las hembras que desarrollan hinchazón gastan (Hrdy, 1981; Domb y Pagel, 2001). Una idea que apoyaría esta hipótesis en *M. arctoides* la proporciona Fooden (1990), autor que, al revisar algunos aspectos de la anatomía, ecología y socio-ecología de la especie, pudo inferir que estos monos pasaron por periodos de escasez de alimento en el hábitat y por lo tanto estuvieron propensos a una competencia intensa por los recursos.

Otra propuesta que puede plantearse es de acuerdo a lo descrito por Clutton-Brock y Parker (1995), quienes han sugerido que una hembra puede minimizar los costos de la coerción sexual si no anuncia de manera conspicua la ovulación. En apoyo a esta propuesta, está el hecho que, aunque encontramos que la frecuencia de agresión sexual fue mayor durante la fase periovulatoria, la frecuencia total observada fue muy baja.

Un antecedente importante de mencionar es que los machos dominantes tienen oportunidad para copular a lo largo de todo el ciclo menstrual, sin que por ello ocurra así todo el tiempo, más bien hay una tendencia a concentrar las cópulas cuando las hembras están en la fase receptiva. De aquí la importancia de nuestros resultados, pues sugieren que los machos cola de muñón han evolucionado la habilidad para detectar la fase de mayor fertilidad, vía el olor de las secreciones vaginales, desde luego, sin descartar que sean capaces de detectarla por otras señales como por ejemplo, las conductas proceptivas.

Al tomar la hipótesis de Hrdy (1979) acerca del infanticidio y conjuntarla con las observaciones de Fooden (1990) el desarrollo de la ovulación escondida en *M.*

arctoides adquiere más sentido. Así, es probable que con la finalidad de adaptarse a un medioambiente no tan favorable, las hembras tuvieron que haber descartado las hinchazones sexuales para disminuir el costo del mantenimiento de tal carácter, reducir la agresión sexual, así como reducir un posible infanticidio y, por el contrario, promover la ayuda de los machos.

Uno de los resultados que obtuvimos fue que, a pesar de lo pequeña de la muestra, la respuesta que cada hembra promovió en los machos fue diferente. No obstante, no se encontró una correlación entre el rango y la edad de la hembra. Esto puede deberse a que sólo se utilizaron cinco, pues a pesar de que la correlación no fue significativa, el valor del coeficiente obtenido fue muy alto. Se ha descrito que los machos de *Macaca arctoides* tienen preferencia hacia ciertas hembras, dependiendo de sus lazos amistosos, familiares y del rango social (Estep y col., 1984; De Waal, 1989). Con los resultados obtenidos hasta el momento no es posible descifrar si alguno de estos factores influyó en la variabilidad individual observada.

Las hembras de la especie en estudio carecen de glándulas especializadas que rodean la región perineal, como por ejemplo, las glándulas de marcaje de los monos del Nuevo Mundo; por ello, es probable que el olor atrayente se deba a los cambios que normalmente sufre el tracto vaginal, por efecto de las hormonas esteroides, que provocan fluctuaciones en la composición y el olor del exudado vaginal. Se sabe que las células epiteliales son ricas en glucógeno, principalmente alrededor del tiempo en que ocurre la ovulación; por acción bacteriana este glucógeno se fermenta a ácido láctico y otros compuestos como los ácidos alifáticos, que proporcionan un olor característico a la vagina. Dado que el ambiente ácido predomina durante la ovulación, es probable que resulte más atrayente para el macho el olor conforme la hembra es más receptiva. El exudado vaginal también está compuesto de secreciones del endometrio y de secreciones de glándulas sebáceas que rodean los genitales (Papka y Williams, 1999). Asimismo, en la naturaleza existen compuestos atrayentes o feromonas que han evolucionado a partir de productos que anteriormente no tenían dicha función, o que incluso eran productos de desecho como por ejemplo, la orina (Albone y Perry, 1976). Es probable que en *Macaca arctoides*, al no haber indicador visual de ovulación, los machos estén aprovechando los cambios que conlleva el ciclo menstrual.

Por otra parte, no tenemos forma de demostrar si el olor puede dar información sobre la fecundidad de las hembras. Sin embargo, el que hayamos encontrado que Cuca (la que mayor número de crías ha tenido) promovió la mayor frecuencia de conductas exploratorias y menor de coercivas podría apoyar la hipótesis. Esto tendría relevancia pensando que el reconocimiento de la fecundidad de una hembra, podría ser el reflejo de las capacidades maternas.

El hecho que los machos también trataron de forzar a las hembras a copular (sin llegar a montas completas) en mayor frecuencia ante los olores de la fase periovulatoria, apoya la noción de que las secreciones vaginales promueven el acercamiento a las hembras como un indicio de motivación para buscar hembras receptivas. Un hallazgo similar ha sido reportado en la marmoseta (Converse y col., 1995), donde un incremento en las conductas de coerción se presenta después de que olores de la fase periovulatoria fueron proporcionados a los machos, y al igual que en *Macaca arctoides*, la agresión sexual estuvo correlacionada con el estatus social del macho, más que con un efecto asociado a la hembra donadora.

El encontrar conductas de agresión sexual como la persecución y los intentos de monta sin llegar a monta completa, a hembras diferentes de las donadoras, muestra que las hembras no sólo necesitan estar en la fase reproductiva apropiada (hay que recordar que no se trabajó cuando hubo cópulas espontáneas en el grupo), pero también que la elección de la hembra y su cooperación puede jugar un papel importante (Smuts, 1987).

Además del efecto de las hembras, también la respuesta de los machos fue variable, sin embargo, en este caso, sí hubo una correlación con el rango social: los machos dominantes exploraron más a las hembras y emitieron más conductas de coerción que los subordinados, en especial de Galleto y Tato. Esto se puede explicar por una inhibición conductual social, pues no sólo los otros tres machos utilizados estaban presentes, sino el resto del grupo. Por lo tanto los intentos sexuales de los subordinados podrían rápidamente provocar represalias por parte de los dominantes. Es muy probable que los individuos de bajo rango, tengan algún handicap, como por ejemplo altas concentraciones de cortisol y bajas concentraciones de andrógenos, que

como se ha reportado para otras especies, inhiben la motivación sexual (Sapolski, 1993; Kraus y col., 1999).

Los machos dominantes generalmente obligan más a las hembras a copular pues ningún otro mono sería capaz de evitarlo. Aunque el encierro del Instituto tiene la facilidad de que los animales pudieran no estar al alcance visual de otros, los machos subordinados no dejan de estar pendientes de que en algún momento se aparezca algún dominante. También puede ocurrir que si una hembra no desea ser explorada por algunos de los subordinados, emita sonidos de alarma, provocando la rápida aparición de los demás.

Finalmente estos resultados sugieren que las secreciones vaginales de las hembras de los macacos cola de muñón indican el estado de receptividad de las hembras, pero no hay un reconocimiento de la identidad individual, como ocurre en otras especies de primates como los calitrícidos (Smith y Abbott, 1998; Lazaro-Perea y col., 1999). Es necesario llevar a cabo otros experimentos para poder esclarecer qué componentes de los presentes en el tracto vaginal son los que podrían estar participando en la atracción del macho.

Experimento 2. Efecto de las secreciones vaginales producidas durante la fase receptiva en la concentración de testosterona, LH y cortisol de los machos.

JUSTIFICACIÓN

La comunicación química u olfatoria está asociada a eventos de exploración del ambiente; dentro del contexto sexual, los machos inspeccionan, ya sea los genitales de las hembras o directamente los olores producidos por órganos de marcaje, como por ejemplo glándulas sebáceas o la orina. De esta forma, pueden adquirir información sobre el estado endocrino de las hembras y copular en el momento más apropiado para la reproducción (Schilling y Perret, 1987; Ziegler y col., 2005).

Además de provocar efectos conductuales, las señales químicas alteran la función neuroendocrina en muchos vertebrados (Koyama, 2004). La mayoría de la investigación se ha realizado en roedores y se ha enfocado a determinar en qué grado las señales químicas afectan las concentraciones hormonales y la conducta de los individuos receptores. Estudios llevados a cabo en ratas muestran que los machos responden a la presencia de una hembra receptiva con una rápida elevación de LH, testosterona y prolactina (Kamel y Frankel, 1978). Además, James y Nyby (2002) también en ratas macho, mostraron que ocurre un pulso de testosterona después de ser expuestos a una hembra o a sus feromonas urinarias. En la oveja doméstica la exposición a una hembra en estro resulta en un incremento de la LH y la testosterona, así como en una elevación temporal de cortisol (Sandford y col., 1974; González y col., 1988). De los resultados presentados en el experimento anterior, se pudo observar que las secreciones vaginales de la fase periovulatoria promovieron una mayor frecuencia de conductas de exploración de genitales. Por ello, el objetivo de este segundo experimento fue averiguar si al exponer a los machos a las secreciones de la fase periovulatoria, había cambios en la concentración de testosterona, LH y cortisol.

MÉTODO

Sujetos

Se utilizaron siete machos adultos de *Macaca arctoides* (dos más aparte de los utilizados en el primer experimento) y dos hembras adultas de 15 y 24 años de edad (diferentes del experimento anterior). Los machos fueron aislados del grupo y mantenidos en jaulas de metal individuales de (1.20 x 1.30 cm) bajo condiciones controladas de luz-oscuridad (0700-1900 h) y aproximadamente 22°C de temperatura. Los monos fueron mantenidos por 3 días, pues decidimos dejarlos intactos 24 horas antes y después del experimento. Como el hecho de atraparlos y aislarlos en jaulas individuales resulta un evento estresante para los animales, los experimentos se llevaron a cabo 24 horas después. Para ello, tomamos como antecedente lo reportado por Nieuwenhuijsen y col. (1987) para la misma especie. Estos autores atraparon a los macacos 24 horas antes de medir la concentración sérica de testosterona y no encontraron alteraciones provocadas por el estrés.

Colección de las secreciones vaginales

Las secreciones vaginales se colectaron de la misma forma que en el experimento anterior, pero esta vez, al algodón se le inyectó 0.2 ml de solución salina. Después de caracterizar bien el ciclo de dos hembras (durante seis meses) éstas fueron utilizadas como donadoras. Dado que para este experimento no era necesario aislar a las hembras, se utilizaron las dos que con facilidad se acercaron diariamente y, en el momento en que las necesitáramos, a la jaula de metal que se conecta con su jaula hogar.

Se utilizaron dos tipos de estímulos para los machos, uno con secreciones vaginales (de las fases periovulatoria y menstruación) y otro con solución salina como control neutro. En total cada macho se utilizó seis veces: dos para secreciones en la fase periovulatoria (una de cada hembra), dos para la menstruación (una de cada hembra) y dos sesiones para el control con solución salina. La exposición a los

estímulos olorosos se realizó con los machos anestesiados, y cada tipo de olor se probó en sesiones separadas.

Cuando detectamos que alguna de las hembras, estaba en el día uno o dos de la menstruación, y posteriormente en el día 12 de la fase periovulatoria, se colectaron los hisopos con las muestras vaginales alrededor de las 7 AM. De esta forma, los primeros experimentos fueron con las secreciones vaginales de la fase de menstruación, después de periovulatoria y al final, o intercalados, los de solución salina. El haber dado seguimiento de seis meses a los ciclos de las hembras, nos permitió que de manera anticipada atrapéramos a los machos y los tuviéramos listos para los días antes mencionados.

Procedimiento Experimental

Dado que se trabajó por la mañana y mediodía, sólo fue posible utilizar dos machos por día, pues cada experimento abarcó dos horas. De esta forma tuvimos que esperar hasta 9 meses para poder completar la ronda con todos los machos, con cada una de las dos hembras y los controles con salina. Todos los experimentos se llevaron a cabo por la mañana porque la testosterona comienza a aumentar a partir de las 2:00 PM. Además se utilizaron monos anestesiados, pues fue difícil encontrar una forma de obtener suero con los monos despiertos.

Por la mañana, alrededor de las 9:00 AM, los machos fueron anestesiados con ketamina en una dosis de 10 mg/kg i.m. Se administró anestesia, una o dos veces más, cuando el mono lo necesitaba. Una vez inconcientes, los colocamos en una mesa de cirugía y se les colocó un catéter intravenoso (0.90 mm x 19 mm), por el que se hizo pasar solución salina (250 ml, 10-16 ml/kg/h). Se colectaron cuatro muestras de sangre de 1.5-2 ml de la siguiente manera: la primera, 15 minutos antes de dar el estímulo olfatorio (muestra basal) y las otras tres, 30, 60 y 120 minutos después del estímulo.

El procedimiento para dar el estímulo olfatorio fue el siguiente. Los hisopos (tres) con la muestra de secreción vaginal o solución salina, se colocaron en un tubo kitasato de vidrio y se cerró con un tapón de goma al cual se le hizo un pequeño orificio. Por el orificio lateral del tubo se conectó una manguera que a su vez se conectó al flujo de aire. Por el orificio del tubo de goma se introdujo un pequeño tubo de vidrio, que fue el

que se acercó a las narinas del mono. Dado que no contamos con un medidor de flujo de aire, éste se hizo pasar lo más suave posible para no incomodar al mono. La punta del tubo del vidrio se acercó a los orificios nasales del macho, sin tocarlo, y se dejó pasar la corriente de aire por 2 segundos, permitiendo 8 segundos de descanso, hasta completar 2 minutos de estímulo. Este tiempo fue un tanto arbitrario y estuvo basado en observaciones del mismo grupo de cuánto tiempo los machos duran inspeccionando a las hembras. En total, se anestesió a cada macho seis veces, tres veces con cada hembra: para la exposición a solución salina, secreción de la fase periovulatoria y de menstruación.

Una vez que se tomaron las cuatro muestras de sangre, los monos fueron regresados a las jaulas individuales y después de recuperarse de la anestesia, se alimentaron bien y se regresaron con el resto del grupo, hasta que de nuevo se tuvieron que utilizar (ver imágenes de la metodología en el apéndice).

Cuantificación de las hormonas

Las muestras de sangre se centrifugaron a 3000 rpm por 30 minutos y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. La testosterona y el cortisol se midieron por medio de kits comerciales para radioinmunoensayo (Testosterone Count-Cont ¹²⁵I Immulite DPC RIA y Cortisol Corquimioluminiscence Immulite DPC, California, E.U.A.). Para medir LH fue necesario adquirir los reactivos, pero al no contar con LH específica para *Macaca arctoides*, se utilizaron inmunoreactivos recombinantes de *Macaca fascicularis* adquiridos por la National Institution of Health, E.U.A. Los coeficientes intra-ensayo para la testosterona, el cortisol y la LH fueron: 9.05%, 8.75%, 8.8% respectivamente; mientras los inter-ensayo fueron: 9.42%, 9.12%, 14.1% respectivamente.

Análisis estadístico

La concentración total de testosterona ante el estímulo con los diferentes olores, se analizó con una prueba T de Student. Las concentraciones de testosterona en los

diferentes tiempos se analizaron por medio de un análisis de varianza para muestras repetidas, en el que los factores intra-sujetos fueron los diferentes estímulos: salina, periovulatoria y menstruación (efecto al que llamaremos tratamiento) y los diferentes tiempos en que se colectó la sangre: -15, 30, 60, y 120 minutos (variable a la que denominaremos tiempos). La hembra (n=2) y el macho (n=7) se incluyeron como factores inter-sujetos. La variable dependiente fue la concentración hormonal. Para averiguar si había un posible efecto del rango social, el índice se incluyó como covariable. Se utilizó la prueba *post hoc* de Bonferroni para contrastar diferencias entre tratamientos y la prueba T de Student para muestras relacionadas, para contrastar los tiempos. Todas las pruebas fueron de dos colas y el nivel de significancia se estableció a $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

Efecto de las secreciones vaginales en la concentración de testosterona

La concentración total de testosterona (presentada como media \pm eem., ng/ml) de los machos fue más alta después de estimularlos con el olor de la fase periovulatoria (9.5 ± 0.642), que cuando se les dio olor de la menstruación (7.001 ± 0.597 ; $t = -3.318$, $gl=58$, $P=0.001$) o solución salina (7.058 ± 0.58 ; $t = -3.295$, $gl=58$, $P=0.001$). No se observaron diferencias significativas entre los efectos provocados por el olor de la menstruación y por la solución salina ($t = 0.193$, $gl=58$, $P=0.847$). La concentración basal (15 min antes del estímulo) no mostró variación entre los tres tipos de estímulo ($F=0.608$, $g.l.=2/15$, $P=0.557$).

Por otra parte, al realizar el ANOVA para muestras repetidas se encontró que había un efecto significativo en la concentración de testosterona dependiendo del macho ($F=9.655$, $g.l.= 5/ 6$, $P=0.008$). El análisis *post hoc* reveló que el macho de más bajo rango fue el que mostró diferencias significativas con respecto de los demás ($P<0.05$).

Para averiguar si el efecto significativo era causado sólo por ese macho, se repitió el análisis de varianza sin él. De esta forma, el efecto del macho resultó no ser significativo ($F=0.921$, $g.l.= 4/5$, $P=0.518$), pero sí el efecto del tipo de estímulo ($F=4.896$, $g.l.= 2/10$, $P=0.03$) y la interacción entre el tipo de estímulo y el tiempo en que se tomó la muestra ($F=2.615$, $g.l.= 6/30$, $P=0.037$).

Para poder analizar el efecto de la interacción entre el tratamiento y el tiempo fue necesario aplicar un ANOVA factorial. Este análisis reveló que a los 60 y 120 minutos, la concentración de testosterona fue significativamente diferente entre los tres tratamientos ($F=5.873$, $g.l.= 2/15$, $P=0.013$; $F=4.957$, $g.l.= 2/15$, $P=0.022$, respectivamente). El análisis *post hoc* indicó que a los 60 minutos, la testosterona en suero fue significativamente mayor cuando los machos se expusieron al olor de la fase periovulatoria, que cuando se expusieron a la salina ($F=11.416$, $g.l.= 1/15$, $P=0.004$) o al olor de la menstruación ($F=4.780$, $g.l.=1/15$, $P=0.045$). Los resultados de la interacción entre el tratamiento y el tiempo se pueden apreciar en la figura 9.

Cabe mencionar que la testosterona permaneció significativamente alta a los 120 minutos después del estímulo con olor de periovulatoria, pero sólo al contrastarlo con la menstruación ($F=9.908$, g.l.=1/15, $P=0.006$) y no con la solución salina ($F=2.66$, g.l.=1/15, $P=0.152$).

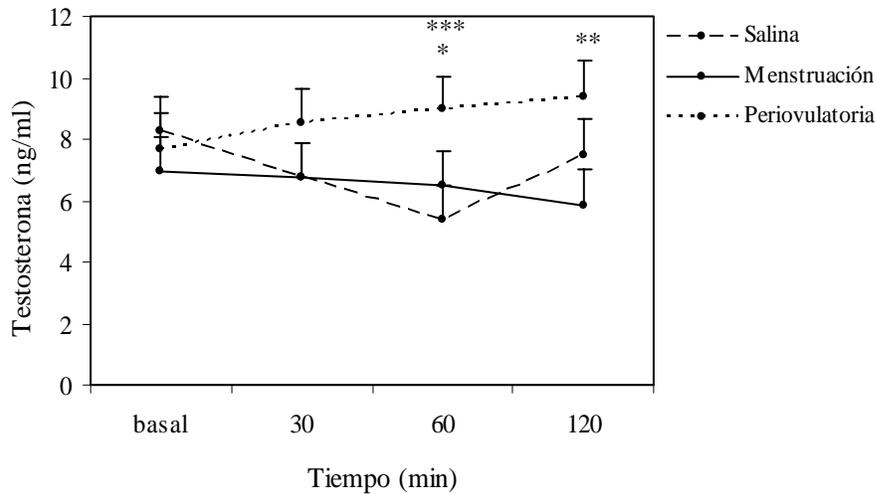


Figura 9. Media \pm (e.e.m.) de la concentración sérica de testosterona, en diferentes tiempos, de seis machos que se expusieron al olor de secreciones vaginales de las fases periovulatoria o menstruación y a solución salina, durante 2 minutos. * $P=0.004$ periovulatoria vs. salina; ** $P=0.006$ periovulatoria vs. menstruación; *** $P=0.045$ periovulatoria vs. menstruación.

Al comparar las concentraciones en los diferentes tiempos con respecto de la basal, se encontró que ante el olor de la fase periovulatoria, la testosterona a los 120 minutos fue significativamente mayor ($t=2.201$, g.l.=11, $P=0.05$). Contrariamente la solución salina provocó la disminución de testosterona a los 30 ($t=3.915$, g.l.=11, $P=0.002$) y 60 minutos ($t=4.119$, g.l.=11, $P<0.001$). La concentración de la misma hormona no cambió cuando los machos fueron estimulados con el olor de la fase menstrual.

Efecto de las secreciones vaginales en la concentración de LH

Tal como ocurrió con la testosterona, al evaluar los efectos sobre la LH, se encontró un efecto significativo que dependió del macho ($F=4.817$, g.l.= 6/7, $P=0.029$). El análisis de las comparaciones entre los machos mostró que nuevamente el de más bajo rango fue diferente a los demás, razón por la cual fue excluido del análisis. Al repetir el análisis estadístico encontramos que dicho efecto desapareció ($F=1.406$, g.l.=5/6, $P=0.342$). El análisis para muestras repetidas mostró que la LH fue diferente dependiendo del tratamiento ($F=11.037$, g.l.=2/5, $P=0.015$) y sólo se presentó una tendencia a ser significativo en la interacción entre el tratamiento y los tiempos ($F=5.08$, g.l.=3/4, $P=0.075$).

La respuesta de los machos a la solución salina (Media \pm e.e.m.: 0.201 ± 0.04 ng/ml) fue en general igual a la que mostraron con olor de menstruación (Media \pm e.e.m.: 0.318 ± 0.052 ng/ml) ($F=2.042$, g.l.=1/18, $P=0.170$). Pero al comparar los valores entre la salina y la periovulatoria (Media \pm e.e.m.: 0.45 ± 0.081 ng/ml), resultó que el estímulo con la última fue significativamente mayor ($F=7.260$, g.l.=1/18, $P=0.014$). No obstante, entre menstruación y periovulatoria, la respuesta de los machos no fue significativamente diferente ($F=1.601$, g.l.=1/18, $P=0.221$).

En la figura 10 se muestra que después de 30 minutos de exposición al olor de periovulatoria, los valores de LH mostraron un incremento, que aunque notorio, no llegó a valores significativos cuando se comparó con salina ($F=3.984$, g.l.=1/18, $P=0.061$) y con menstruación ($F=1.259$, g.l.= 1, 18, $P=0.276$). Este aumento a los 30 minutos con periovulatoria fue significativo cuando se comparó con la concentración basal ($t=2.201$, g.l.=11, $P=0.05$).

Transcurridos 60 y 120 minutos de estimulación con olor de periovulatoria, los valores de LH fueron significativamente mayores que los de salina (60 min: $F=5.568$, g.l.= 1,18, $P=0.02$; 120 min: $F=6.223$, g.l.= 1,18, $P=0.02$), resultado que sugiere un efecto sostenido y una lenta recuperación para llegar a los valores basales. Por otro lado, el olor de menstruación no fue diferente de la periovulatoria (60 min: $F=1.415$, g.l.= 1/18, $P=0.249$; 120 min: $F=0.026$, g.l.= 1,18, $P=0.872$). Entre la salina y la menstruación

a los 60 minutos no hubo diferencias ($F=1.368$, g.l.= 1/18, $P=0.257$) pero sí a los 120 minutos ($F=5.436$, g.l.= 1,18, $P=0.031$).

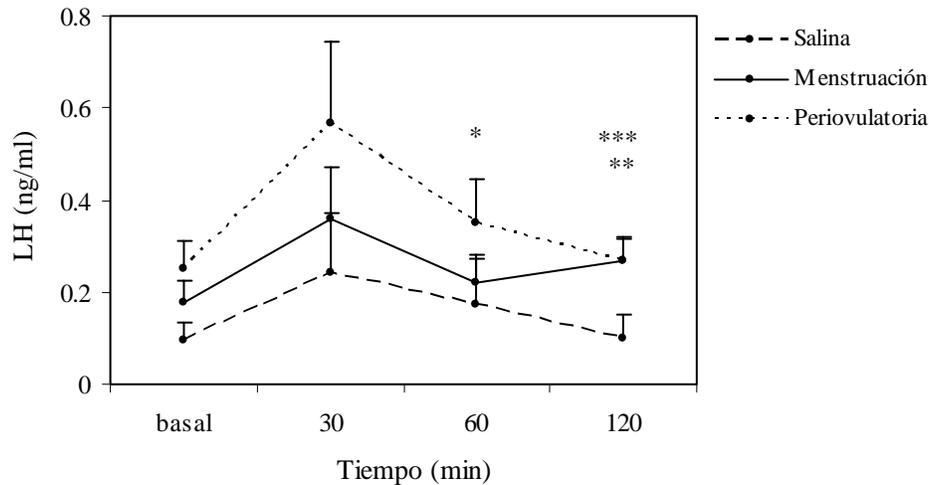


Figura 10. Media \pm (e.e.m.) de la concentración sérica de LH, en diferentes tiempos, de seis machos que se expusieron al olor de secreciones vaginales de las fases perioovulatoria o menstruación y a solución salina, durante 2 minutos. * $P=0.02$ vs. perioovulatoria vs. salina; ** $P=0.02$ vs. perioovulatoria vs. salina; *** $P=0.031$ salina vs. menstruación.

Efecto de las secreciones vaginales en la concentración de cortisol

No se encontraron efectos significativos en la concentración de cortisol ni de la fase ($F=1.619$, g.l.= 4/5, $P=0.305$), ni del tiempo ($F=5.405$, g.l.= 3/5, $P=0.100$) pero nuevamente se encontró un efecto significativo del macho ($F=9.536$, g.l.= 6/7, $P=0.004$), pero en este caso se debió a dos monos, el de más bajo rango y uno intermedio. Al no considerar a los dos machos, desapareció el efecto ($F=0.757$, g.l.= 4/5, $P=0.595$). Sin embargo, como no se encontró un efecto ni de la fase ni del tiempo, en la figura 11 grafica la concentración de cortisol de los siete machos. En esa figura, se puede apreciar que, aunque no significativo, en respuesta al olor de perioovulatoria hay una ligera disminución de cortisol, mientras que con la salina hay una tendencia al aumento a los 30 min.

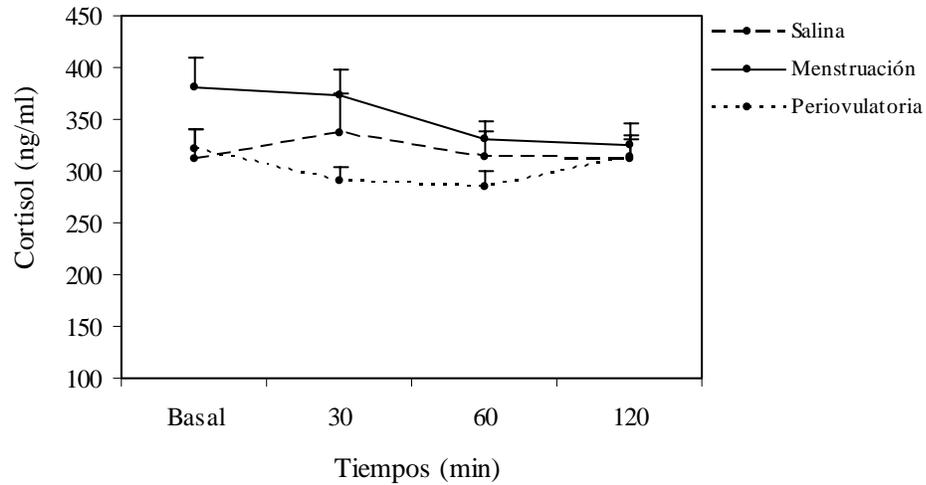


Figura 11. Media \pm (e.e.m.) de la concentración sérica de cortisol, en diferentes tiempos, de siete machos que se expusieron al olor de secreciones vaginales de las fases perioovulatoria o menstruación y a solución salina, durante 2 minutos.

En la figura 12 se pueden observar los valores de testosterona y cortisol en Tato, el macho de más bajo rango y cuyos datos hormonales no fueron incluidos en los análisis estadísticos. Puede observarse que la concentración de testosterona, a diferencia de los demás machos, disminuye marcadamente, sin observar alguna tendencia a regresar al valor basal cuando el tratamiento fue con solución salina o con secreciones de menstruación. Sin embargo, con el olor de la fase perioovulatoria aumenta a un máximo a los 60 minutos después del estímulo; a los 120 minutos lo que observamos es una disminución. Aunque el cortisol en Tato no muestra fluctuaciones marcadas, se puede observar que 30 minutos después de proporcionar el olor de la fase de menstruación, hay un ligero aumento, contrario a lo que ocurre cuando se trató del estímulo con perioovulatoria, en cuyo caso, el cortisol tiende a disminuir.

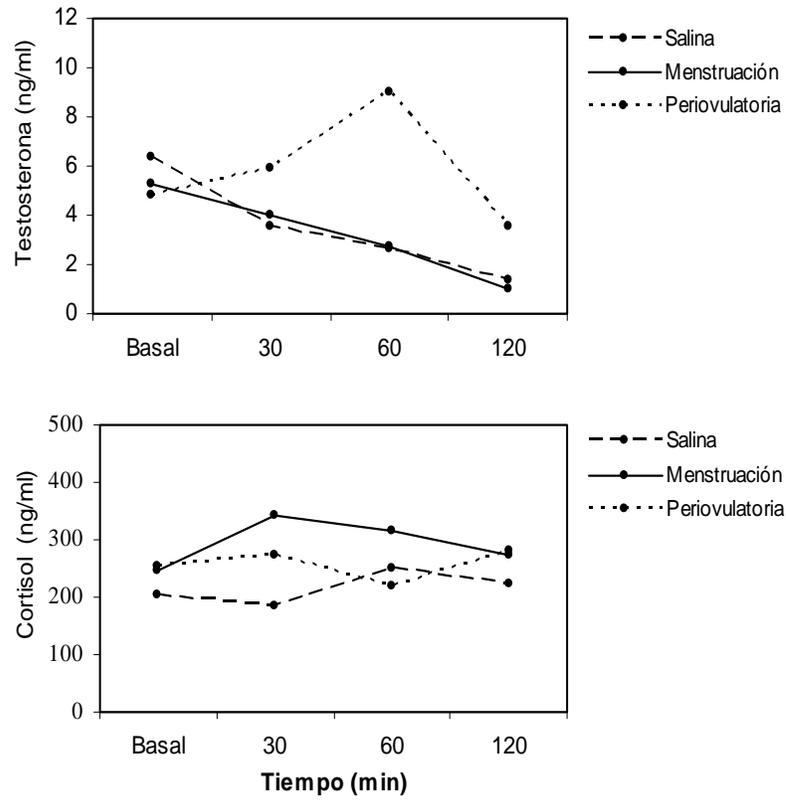


Figura 12. Media de la concentración sérica de testosterona y cortisol, en diferentes tiempos, del macho más subordinado que fue expuesto al olor de secreciones vaginales de las fases perioovulatoria o menstruación y a solución salina, durante 2 minutos.

DISCUSIÓN

Los resultados de este experimento muestran que hay efectos endocrinos en el macho del macaco cola de muñón, en respuesta a la estimulación olfatoria con secreciones vaginales de hembras que se encuentran en la fase periovulatoria. El hecho de haber encontrado efectos aun con los monos anestesiados, sugiere que probablemente hay una vía(s) neuroendocrina que vincula un estímulo olfatorio con la reproducción, sin necesidad de una interacción conductual.

Estos resultados son acordes con los ya descritos para otros mamíferos primates y no-primates, en los que se ha demostrado que los machos muestran respuestas fisiológicas y conductuales específicas de acuerdo a la condición reproductiva de las hembras (Michael y Welegalla, 1968; Vandenberg, 1969; James y Nyby, 2002).

En muchos mamíferos la estimulación olfatoria con diferentes componentes presentes en el exudado vaginal, de la orina o de ambos, activa reflejos neuroendocrinos que pueden, dependiendo del contexto, regular la liberación de gonadotropinas o promover algún patrón de conducta sexual. Al respecto, la secreción pulsátil de LH es necesaria para que ocurra la secreción testicular de testosterona, de manera que un pulso de LH es seguido de una elevación del andrógeno, que se mantiene detectable por más tiempo (Stocco, 1999).

En este experimento pudimos observar que sólo el estímulo con las secreciones de la fase periovulatoria promovió el aumento en la concentración de LH y de testosterona. La mayor concentración de LH la detectamos 30 minutos después del estímulo, mismo que fue seguido de la elevación en la concentración de testosterona a los 60 y 120 minutos. Aunque el olor de la fase menstrual provocó un pequeño aumento en la gonadotropina, no se reflejó en un incremento de testosterona, por lo que este efecto discreto de la LH no fue lo suficientemente fuerte como para promover una mayor liberación de la hormona testicular, como la observada para el caso del estímulo con secreciones de la fase periovulatoria. El hecho de haber encontrado una respuesta similar entre el control con salina y el estímulo con secreción menstrual, nos lleva a sugerir que el olor de ésta última no provoca ninguna respuesta endocrina de relevancia reproductiva para el macho.

Por otra parte, dos minutos de estimulación intermitente, fueron suficientes para observar efectos endocrinos en *Macaca arctoides*. Este tiempo de estímulo fue más o menos cercano a lo que se observa comúnmente en los grupos. Además, el macaco cola de muñón no olfatea de manera constante la región perineal de las hembras; más bien alterna entre exploración táctil y visual. Por ello en este trabajo decidimos estimular al macho sólo durante dos minutos y alternar dos segundos de olor por ocho de descanso. Nuestros resultados contrastan con lo descrito por otros autores, que han mantenido el olor de manera constante por mucho más tiempo. Por ejemplo, Mora y colaboradores (1990), encontraron que la testosterona disminuyó al exponer a machos de mono rhesus (*Macaca mulatta*) a secreciones vaginales y orina de hembras receptoras de manera constante durante una hora.

Una explicación a tales diferencias podría ser que la exposición constante a un olor puede inducir habituación (o inhibición), es decir, ante una estimulación sostenida de un mismo olor, llega un momento en que ya no hay respuesta por parte de la célula receptora (Mertl, 1975; Brown, 1997). Por ejemplo, en el ratón macho ocurre la liberación de LH a la circulación con la sola presencia de la hembra o después de la estimulación con su orina. Sin embargo, presentaciones sucesivas de la misma hembra o de la orina promueven la disminución gradual de la respuesta hormonal, mientras que la exposición a una hembra diferente o al cambiar la orina, provoca que nuevamente aparezcan pulsos de LH (Coquelin y Bronson, 1979).

Es probable que un mecanismo similar de habituación haya ocurrido en el trabajo de Mora y col., (1990). De manera similar, Monti-Bloch y col., (1998) reportaron también una disminución en la concentración de testosterona y de la pulsatilidad de LH, al exponer a hombres voluntarios a diferentes dosis de una feromona sintética cada diez minutos y durante seis horas. Por otra parte, Monti-Bloch y Grosser (1991), llevaron a cabo un estudio en el que tanto a hombres como a mujeres se les sometió a estimulación del órgano vomeronasal, por medio de la liberación de pulsos de feromonas sintéticas para así registrar la actividad eléctrica de las neuronas de dicho órgano. Los autores registraron la actividad eléctrica de las células con sólo proporcionar pulsos desde 300 mseg a un seg de duración, mientras que diez seg continuos de estimulación provocaron una respuesta de habituación.

En términos biológicos, sería más relevante encontrar que un estímulo proveniente de una hembra receptiva provocara un aumento en la concentración de testosterona pues es un andrógeno que se utiliza en diversas funciones masculinas conductuales y fisiológicas vinculadas a la reproducción, como por ejemplo la espermatogénesis. Además, en la mayoría de los estudios que se han llevado a cabo en otros mamíferos, los olores provenientes de las hembras generalmente inducen una elevación de testosterona (Sandford y col., 1974; González y col., 1988). Por lo tanto, es difícil precisar qué función tendría que ante un olor, la respuesta de dicho andrógeno fuera negativa, salvo que se tratara de algún olor aversivo que provocara una reacción de estrés. La disminución en la secreción de testosterona puede ocurrir por tres mecanismos principalmente: una aceleración en la degradación de la hormona o por un aumento en la globulina transportadora; una inhibición directa de la esteroidogénesis en el testículo, o por una inhibición de la esteroidogénesis dependiente de la LH y por lo tanto de la GnRH (Cicero, 1980). Sin embargo, ninguno de estos mecanismos ha sido estudiado.

Otras importantes diferencias entre el presente trabajo y el realizado por Mora y col., (1990) con *Macaca mulatta* son, en primer lugar, que utilizaron muestras de secreciones vaginales que se habían almacenado bajo congelación y en este trabajo se utilizaron muestras recién tomadas. En segundo lugar, en el estudio citado sólo se utilizaron dos machos y en el presente trabajo se utilizaron 7 (con diferente rango social). Podría ser también que las respuestas difirieran puesto que se trata de diferentes especies y aunque el mono rhesus pertenece al género *Macaca*, posee algunas características que no están presentes en el arctoides. De las características más distintivas se pueden mencionar la falta de estacionalidad reproductiva en arctoides, el que las hembras no desarrollan hinchazón sexual de la región de los genitales y algunos otros aspectos de la conducta socio-sexual (Fooden, 1990; De Waal, 1989).

Por otra parte, es un tema aún controvertido si la testosterona promueve la conducta sexual en los machos de los primates. En principio, Nieuwenhuijsen y col., (1987) estudiaron durante 28 meses un grupo grande de macacos cola de muñón que vivían en condiciones de cautiverio exterior. Durante este tiempo obtuvieron las

concentraciones de testosterona de los machos y los rangos de dominancia, sin encontrar una correlación positiva entre ambos parámetros. Además, midieron la testosterona inmediatamente y 24 horas después de atrapar a los monos, sin encontrar alguna diferencia. En este trabajo se decidió llevar a cabo los experimentos 24 horas después de haber aislado a los monos del grupo, debido a que los animales no estaban acostumbrados a ser manipulados y para evitar algún sesgo causado por un posible caso de estrés en los animales. Aunque en el estudio de Nieuwenhuijsen y col., (1987) no midieron la concentración de cortisol, en este trabajo consideramos importante hacerlo, pues generalmente resulta una buena medición del grado de estrés de los individuos (Crockett y col., 2000). Al respecto, se ha descrito que factores como el Factor Liberador de Corticotropina, involucrado en la respuesta al estrés, al ser administrado directamente en el cerebro, provoca la inhibición en la síntesis de testosterona (Lee y col., 2002); en este sentido, es útil la medición de esa hormona para descartar un efecto de estrés.

En otro trabajo con *Macaca arctoides*, Goldfoot y col., (1975) cuantificaron la concentración de testosterona antes y después de someter a los animales a tres horas de experimento en pareja, pero no encontraron cambios en la concentración de testosterona ni en la frecuencia de eyaculaciones múltiples -característica de esta especie-. Sin embargo, sí detectaron una disminución de la misma al final del experimento, independientemente de si los machos habían presentado o no conductas sexuales. Estos autores argumentaron que el estrés pudo haber influido en el decremento de la testosterona, pero tampoco midieron cortisol, por lo que sus resultados no son concluyentes.

De manera similar Phoenix y col., (1977) realizaron experimentos de parejas aisladas de monos rhesus y compararon las concentraciones de cortisol, testosterona y LH en los machos, antes y después de que copularan. Aunque encontraron un pequeño aumento en el cortisol después de la cópula, las otras hormonas no cambiaron.

En conjunto, los resultados antes descritos no apoyan la idea de que la testosterona regule por completo la expresión de la conducta sexual en los machos de primates del Viejo Mundo, es decir, no se ha encontrado una relación entre la frecuencia y la capacidad de despliegue de montas copulatorias y la concentración del

andrógeno. Al respecto, Wallen (2001) propuso una interesante hipótesis sobre la función de la testosterona en los machos: que esta hormona participa en la motivación sexual.

Se han llevado a cabo algunas manipulaciones experimentales que permiten confirmar la relación entre la testosterona y la motivación sexual. Por ejemplo, se sabe que en *Macaca fascicularis*, la administración de un antagonista de testosterona a machos intactos y castrados tratados con testosterona, disminuye la motivación sexual (medida como frecuencia de intentos de monta y acercamiento a las hembras) (Zumpe y col., 1996). Cuando a los machos castrados o con el antagonista, se les administra testosterona, comienzan a presentar conductas de motivación sexual ante la presencia de las hembras (Michael y Wilson, 1974). Este hallazgo puede significar que hay un sistema andrógeno-dependiente que regula la motivación sexual.

De los resultados de esta tesis se puede decir que, el incremento en testosterona, con respecto de un control neutro, sugiere que este andrógeno podría preparar al macho, ante la presencia de hembras receptivas, para aproximarse y copular. Se sabe que la testosterona ejerce efectos rápidos, con latencias de 10-15 min., entre ellos la apertura rápida de canales de calcio en tejidos como los miocitos cardíacos y las células de Sertoli (James y Nyby, 2002). Además, promueve efectos rápidos sobre la excitabilidad neuronal en algunas regiones cerebrales importantes para la reproducción como el área preóptica e hipotalámica anterior, el hipocampo, entre otras (James y Nyby, 2002).

Aunque este efecto de promover la motivación sexual es un evento que no necesariamente requiere de la experiencia previa del animal, es evidente que no podemos descartar un efecto de aprendizaje, es decir, que durante su desarrollo, los machos aprendan a reconocer por el olor y por otras vías como la conducta, el estado reproductivo de las hembras. Este aprendizaje podría quedar dentro de la memoria del individuo, permitiendo que encontráramos respuestas endocrinas, aun con el animal anestesiado. Además, puede que se trate de una respuesta innata, como el efecto observado en otros mamíferos por las feromonas promotoras. Para poder asegurar lo anterior habría que llevar a cabo el mismo experimento, pero con machos que no hayan estado en contacto con hembras que han empezado a tener ciclos reproductivos.

En primates se han llevado a cabo muy pocos estudios que muestren que las señales olfatorias puedan activar un circuito neural, común con otros mamíferos, involucrado en la regulación social del apareamiento. Trabajos realizados en *Macaca fascicularis* y en *Macaca nemestrina* revelaron conexiones neurales del bulbo olfatorio principal con la corteza primaria olfatoria; esta corteza incluye áreas como el núcleo medial de la amígdala, que posee amplias proyecciones al tálamo y al hipotálamo (Carmichael y col., 1994). Dentro del hipotálamo, el área preóptica está involucrada en la expresión de la conducta sexual de roedores (Perachio y col., 1979), en marmosetas (Ferris y col., 2001) y en el mono rhesus (Oomura y col., 1983). Por medio de resonancia magnética nuclear, se ha mostrado que hay actividad en el área preóptica y el hipotálamo anterior de machos, después de ser expuestos al olor de las secreciones vaginales de hembras en la fase ovulatoria, pero no de hembras ovariectomizadas (Ferris y col., 2001).

La ruta neural para el procesamiento de un olor se ha podido estudiar más detalladamente en especies pequeñas como los roedores (Halpern y Martínez-Marcos, 2003); por ejemplo, cuando el macho de una rata olfatea un olor de una hembra, la información es percibida en primera instancia por el bulbo olfatorio accesorio, el cual lleva la información a otras regiones directamente involucradas con la liberación de GnRH y por lo tanto de hormonas gonadales (Wirsig-Wiechmann y Wiechmann, 2001).

Los resultados obtenidos en este experimento no nos permiten asegurar que el efecto inducido por las secreciones vaginales siga una ruta neural similar a la que se ha descrito en los roedores, pero el hecho de que hayamos observado dos respuestas, una de explorar con mayor frecuencia a las hembras y otra de aumentar la concentración de testosterona, nos lleva a sugerir un efecto motivacional. Además, el que estas respuestas se observaran con mayor intensidad con secreciones de la fase periovulatoria, sugiere también que podría ser un evento cognitivo moldeado por la experiencia sexual.

En apoyo a la idea de una respuesta motivacional, contamos con la evidencia de que el macho de más bajo rango, ante la exposición de las secreciones vaginales, fue el que emitió la menor frecuencia de conductas sexuales. Esto ocurre por la supresión social que ejercen los machos de más alto rango, que no permiten a los de menor rango

acercarse a las hembras. Por otra parte, al quitar el efecto social y experimentar con el macho anestesiado, éste respondió con un incremento muy marcado de testosterona los 60 min. Contrariamente, la exposición a solución salina o secreciones en fase menstrual provocó la disminución gradual en la concentración del andrógeno hasta los 120 min. Un efecto similar se ha reportado para otras especies de primates. En un estudio llevado a cabo por Sapolsky (1993) con papiónes en libertad, se observó que al anestésiar con dardos a los machos, los de rango dominante presentaron un pico de testosterona a los 30 min., seguido de una disminución gradual al valor basal. Por el contrario, los machos subordinados mostraron una marcada disminución en la concentración de la hormona a partir de los primeros 30 min. En nuestros resultados, esto mismo pudo ocurrir en el macho subordinado, efecto que se vio revertido con el olor de la fase periovulatoria.

En este trabajo, se observó una tendencia al aumento en la concentración de cortisol, cuando los machos se expusieron a la solución salina o a las secreciones de la fase de menstruación. Por el contrario, en el caso de las secreciones de la fase periovulatoria se encontró una tendencia a disminuir, hecho que, aunque no significativo, se correlaciona negativamente con la concentración de testosterona encontrada.

La concentración de cortisol fue menor a los 30 y 60 minutos después de la exposición a olores de en la fase receptiva. Dichos valores regresaron a los basales, transcurridos 120 minutos. Por lo tanto a pesar de no haberse encontrado significancia estadística, estos resultados sugieren que las secreciones de la fase periovualtoria generan información química que podría contrarrestar los efectos del estrés, provocados por las manipulaciones experimentales.

DISCUSION GENERAL

Los hallazgos de ambos experimentos nos permiten apoyar la hipótesis de que los olores de las secreciones vaginales producidas en la fase periovulatoria, provocan en los machos un aumento en la respuesta conductual sexual (aunque no en las cópulas) y un aumento en la concentración de testosterona. Ambos resultados apoyarían también la suposición de que las secreciones vaginales en *Macaca arctoides* pueden tener un efecto similar a feromonas.

De estos resultados se puede sugerir que los olores genitales de las hembras favorecen en los machos la motivación a explorar a las hembras y así poder reconocer el momento más propicio para iniciar un vínculo sexual o una cópula. Esto a su vez, también sugiere que las secreciones vaginales pueden contener algún componente específico o una mezcla, que es capaz de modular la fisiología y la conducta de manera tal que motive al macho para enfrentarse a los riesgos que implica acercarse a una hembra, por ejemplo: posibles competencias o el hostigamiento de otros individuos. En ratones, se ha mostrado que la presencia de una hembra receptiva estimula la espermatogénesis en machos dominantes (Koyama y Kamimura, 2000). En el lémur ratón, cuando inicia la estación reproductiva, la exposición de los machos a la orina de las hembras promueve el aumento de testosterona y el incremento en el tamaño testicular (Schilling, 1995). Con los datos obtenidos en este trabajo no es posible asegurar si el aumento en la testosterona promueve la espermatogénesis, pero es posible que tenga que ver con la motivación para explorar los genitales de las hembras, como se ha descrito en el hámster (Fiber y Swann, 1996).

Por otra parte, el sólo estímulo del hisopo con las secreciones vaginales no fue suficiente para desencadenar una cópula. Una interpretación a este hallazgo es que las demás hembras del grupo no estaban sincronizadas con la donadora y por lo tanto era fácil que el macho rápidamente perdiera el interés, aunado a la mezcla de olores del grupo. Otra opción que ya se discutió, es que en la vida social de los individuos la estimulación múltiple y la interacción con las hembras suelen reforzar la estimulación olfatoria para adquirir un completo esquema del estatus reproductivo de las hembras.

De acuerdo a la definición una feromona, se trata de un semioquímico que al ser secretado por un individuo, desencadena un cambio conductual, que generalmente se acompaña de un efecto endocrino (Halpern y Martínez-Marcos, 2003; Rodríguez, 2004). Los resultados de esta tesis indican que las secreciones vaginales de la fase periovulatoria no promovieron cópulas, pero sí una respuesta conductual de exploración de genitales a las hembras (ver figura 13).

De acuerdo a Singer (1991) un olor que sólo desencadena una reacción de investigación no puede ser considerado una feromona, sólo como una clase de estímulos o atrayentes socio-sexuales, pues se trata generalmente de respuestas percibidas y procesadas por el sistema olfatorio principal y no por el sistema vomeronasal. Este mismo autor ha realizado experimentos en hámster, en los que muestra que la afrodisina, una feromona presente en las secreciones vaginales, estimula inmediatamente la cópula en el macho, aun cuando se someta no a una hembra, sino a un macho anestesiado con la feromona untada. Asimismo se ha visto que cuando el órgano vomeronasal es removido, el macho no es capaz de reconocer el compuesto. Sería difícil encontrar una respuesta tan específica como la del hámster, en los primates del Viejo Mundo, pues por la múltiple combinación de señales y la organización social de los grupos, es difícil poder delimitar el efecto de un solo estímulo. Hasta el momento no se ha podido diseñar un procedimiento experimental, que permita, de manera aislada, analizar el efecto conductual de las secreciones vaginales en la especie en estudio.

Contrario a lo que Singer (1991) plantea, muchas de las respuestas a feromonas que se han documentado en otros mamíferos, no dependen del órgano vomeronasal, pero si del sistema principal. En los primates del Viejo Mundo, la controversia sobre el uso y la importancia de las feromonas, es que no ha sido posible detectar con toda claridad el órgano vomeronasal, ya que algunos autores han descrito sólo estructuras vestigiales (Zhang y Webb, 2003). No obstante, muchas respuestas a feromonas, como por ejemplo la respuesta endocrina que se observa en las ovejas, ante el estímulo del olor de los machos, no es dependiente del vomeronasal (Signoret, 1991), sino del sistema olfatorio principal. De la misma forma, la conducta de los gazapos de localizar los pezones de la madre, guiada por feromonas maternas, es independiente de la

presencia del órgano vomeronasal (Hudson y Distel, 1986), lo que nos lleva a pensar que en los macacos la información también podría ser procesada por el sistema olfatorio principal. Singer (1991) además argumenta que una feromona necesita un receptor específico a feromonas en el OVN. Sin embargo, como ya se describió en la introducción, se ha reportado la expresión de receptores del OVN a feromonas, en epitelio olfatorio principal (Rodríguez, 2004).

Por otra parte, en este estudio, se encontró un efecto endocrino ante el olor de las secreciones vaginales de la fase periovulatoria en machos anestesiados. Esto apoya la idea de un efecto endocrino o promotor por feromonas, como se ha observado para otras especies. Por ejemplo al exponer a una hembra de oveja al olor de la lana del macho, hay una rápida inducción de la actividad ovárica, como consecuencia de cambios inmediatos en la secreción de gonadotropinas. Así, unos minutos después de la presencia del olor de un macho, se observa un pulso de LH en las hembras en anestro (Signoret 1991). El olor de la orina de los machos de ratón, es capaz de provocar en un grupo de hembras separadas de los machos, la sincronización de su ciclos ováricos y la aceleración del estro (Whitten, 1959).

Como se observa en el modelo de la figura 13, el que se encontrara que los machos anestesiados aumentarían la concentración de LH y testosterona en respuesta a los olores de la fase periovulatoria permite sugerir una posible acción feromonal, pues la respuesta se observó en los machos no conscientes y, además, sin cambios significativos en la concentración de cortisol, que pudieran indicar que sólo se trató de una respuesta al estrés. El problema es que, para poder asegurar que se trata de un efecto poco interferido por la experiencia, sería necesario repetir el experimento en individuos jóvenes privados de las hembras, lo que resulta muy difícil dadas las condiciones en que se mantienen a los monos en la colonia.

Resulta muy ventajoso y benéfico para los individuos el que puedan modificar las respuestas conductuales de acuerdo al aprendizaje y la experiencia, pues les evitaría llevar a cabo acciones en las que su vida corriera riesgos. Por ello, probablemente el efecto provocado por el olor de la muestra de la fase periovulatoria de las hembras podría ser considerado como un efecto endocrino por feromonas que ha sido moldeado por la experiencia de los monos.

Finalmente, hay autores que resaltan la importancia de las ventajas adaptativas que representa utilizar a las feromonas como un factor de comunicación. En los primates del Viejo Mundo, en los que se ha planteado que el olor no tiene ninguna relevancia adaptativa, puede ser que el macho receptor de la feromona haya aprendido a explotar una señal que no tenía ninguna funcionalidad para él antes (como por ejemplo las secreciones vaginales) y así convertirse en una señal de relevancia para conseguir hembras receptivas (Wyatt, 2003). Siguiendo esta suposición, el macho obtendría beneficios al discriminar entre aquellas hembras que estuvieran dispuestas a aparearse y las que no lo están. Retomando la hipótesis de la escasez de recursos en el caso de *Macaca arctoides* y el que las hembras perdieran la hinchazón sexual, sería posible pensar en que los machos utilizaran cualquier estímulo disponible para localizar a las hembras receptivas; el más lógico y adecuado, por su hábito socio-sexual de inspeccionar constantemente a las hembras, sería el emplear los cambios dependientes de hormonas que ocurren en las secreciones vaginales.

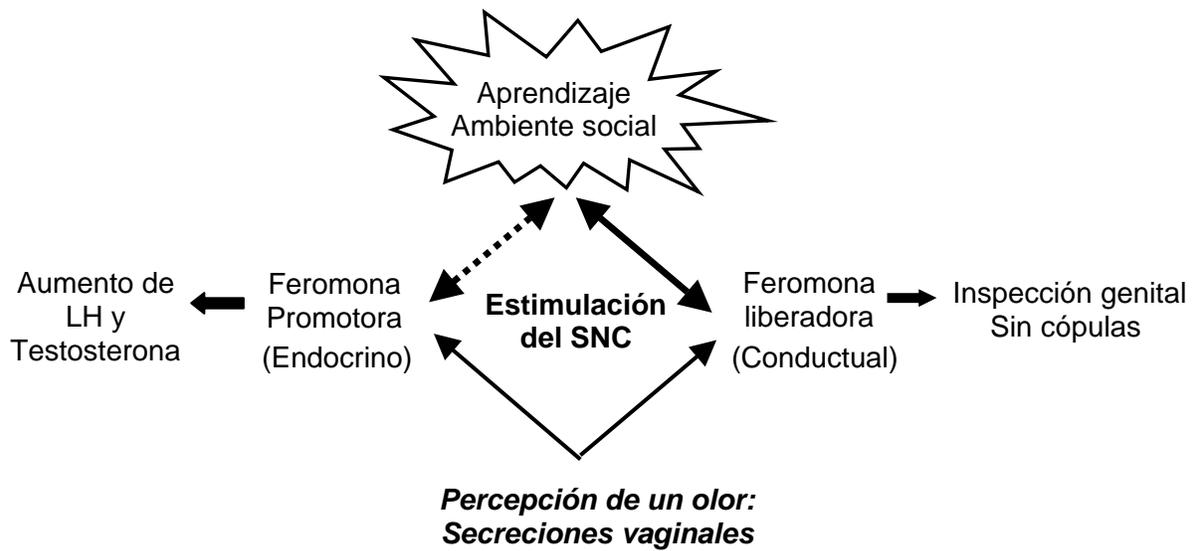


Figura 13. Modelo explicativo de la posible acción de las secreciones vaginales como una feromona. Al percibirse un olor, es procesado por el sistema nervioso central (SNC). Los resultados de este trabajo muestran que las secreciones vaginales de la fase periovulatoria promovieron, por un lado, la conducta de exploración sexual de las hembras, y por otro, el aumento de la concentración de LH y testosterona. Con ello podemos asumir que dichos componentes de las hembras pueden ser consideradas como feromonas. Una explicación de que no encontráramos cópulas es que en los primates, hay una fuerte influencia de los factores ambientales, como por ejemplo, las presiones sociales de los individuos y por el aprendizaje. La línea punteada indica que el efecto endocrino se ve menos influido por dichos factores, en comparación al efecto conductual, en el que siempre estuvieron presentes todos los individuos de los diferentes rangos de dominancia.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta tesis muestran que:

1. El estímulo con las secreciones vaginales de hembras en la fase periovulatoria, promovió en los machos una mayor frecuencia y duración de las conductas de exploración de genitales y un aumento en la concentración de LH y de testosterona.
2. Dado lo anterior, las secreciones vaginales pueden considerarse como una señal similar a feromonas hacia el macho, indicativa de la condición de receptividad.

REFERENCIAS

Abbott, D. H. 1993. Social conflict and reproductive suppression in marmoset and tamarin monkeys. En: *Primate Social Conflict*. (Ed. por W. Mason y S. Mendoza), pp. 331-372, New York: Plenum Press.

Abbott, D. H., Keverne, E. B., Bercovitch, F. B., Shively, C. A., Mendoza, S. P., Saltzman, W., Snowdon, C. T., Ziegler, T. E., Banjevic, M., Garland, T. Jr., Sapolsky, R. M. 2003. Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Hormones and Behavior* **43**, 67-82.

Albone, E. S. y Perry, G. C. 1976. Anal sac secretion of the red fox, *Culpes culpes*: volatile fatty acids and diamines: implications for a fermentation hypothesis of chemical recognition. *Journal of Chemical Ecology* **2**, 101-111.

Andelman, S. 1987. Evolution of concealed ovulation in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*). *The American Naturalist* **129**, 785-799.

Andersson, M. B. *Sexual Selection*. 1994. Princeton: Princeton University Press.

Barrett, J., Abbott, D. H., y George, L. M. 1990. Extension of reproductive suppression by pheromonal cues in subordinate female marmoset monkeys, *Callithrix jacchus*. *Journal of Reproduction and Fertility* **90**, 411-418.

Beach, F. 1976. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior* **7**, 105-138.

Bernstein, I. S. 1980. Activity patterns in a stump-tail macaque group (*Macaca arctoides*). *Folia Primatologica* **33**, 20-45.

Bhatnagar, K. P., Mesiami, E. 1998. Vomeronasal organ in bats and primates: extremes of structural variability and its phylogenetic implications. *Microscopy Research and Technique* **43**, 465-75.

Boyd, R., y Silk, J.B. 1983. A method for assigning cardinal dominance ranks. *Animal Behaviour* **31**, 45-58.

Bronson, F., y Whitten, W. 1968. Oestrous accelerating pheromone of mice: assay, androgen-dependency, and presence in bladder urine. *Journal of Reproduction and Fertility* **15**, 131-134.

Brown, P. B. 1997. The electrochemical basis of neuronal integration. En: D. Haines (Ed), *Fundamental Neuroscience*. pp. 31-49, Philadelphia: Churchill Livingstone.

Carmichael, S.T., Clugnet, M.C., y Price, J.L. 1994. Central olfactory connections in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology* **346**, 403-434.

Cheney, D. L., Seyfarth, R. M., Smuts, B. B., y Wrangham, R.W. 1987. The study of primate societies. En: *Primate Societies*. (Ed. por B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker) pp. 1-8, Chicago: University Press.

Cheney, D. L., y Seyfarth, R. M. 1990. *How Monkeys See the World: Inside the Mind of Another Species*, Chicago: University Chicago Press.

Chevalier-Skolnikoff, S. 1975. Heterosexual copulatory patterns in stumptail macaques (*Macaca arctoides*) and in other macaque species. *Archives of Sexual Behavior* **4**, 199-219.

Cicero, T. 1980. Effects of exogenous and endogenous opiates on the hypothamic-pituitary-gonadal axis in the male. *Federal Proceedings* **39**, 2551-2552.

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

Clutton-Brock, T.H. y Parker, G.A. 1995. Punishment in animal societies, *Nature* **373**, 209-216.

Converse, L. J., Carlson, A., Ziegler, T. E., y Snowdon, C.T. 1995. Communication of ovulatory state to mates by female pygmy marmosets, *Cebuella pygmaea*. *Animal Behaviour* **49**, 615-621.

Coquelin, C. A., y Bronson, F. H. 1979. Release of luteinizing hormone in male mice during exposure to female: habituation of the response. *Science* **206**, 1099-1101.

Crockett, C., Shimoji, M., y Bowden, D. 2000. Behavior, appetite, and urinary cortisol responses by adult female pigtailed macaques to cage size, cage level, room change, and ketamine sedation. *American Journal of Primatology* **52**, 63-80.

Darwin, C. 1871. *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. London: John Murray.

Davies, N. B. 1991. Mating systems. En: *Behavioural Ecology*. (Ed. por J. R. Krebs y N. B. Davies) pp. 263-294, Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Deschner, T., Heistermann, M., Hodges, K., y Boesch, C. 2003. Timing and probability of ovulation in relation to sex skin swelling in wild West African chimpanzees, *Pan troglodytes verus*. *Animal Behaviour* **66**, 551-560.

De Ruiter, J. R., y van Hooff, Jan A. 1993. Male dominante rank and reproductive success in primate groups. *Primates* **34**, 513-523.

De Waal, F. 1989. *Peacemaking Among Primates*. Cambridge: Harvard University Press.

Dixon A. 1998. *Primate Sexuality*. Oxford: Oxford University Press.

Domb, L., y Pagel, M. 2001. Sexual swellings advertise female quality in wild baboons. *Nature* **410**, 201-206.

Dukelow, W.R., Grauwiler, J., y Brüggermann, S. 1979. Characteristics of the menstrual cycle in nonhuman primates. I. Similarities and dissimilarities between *Macaca fascicularis* and *Macaca arctoides*. *Journal of Medical Primatology* **8**, 39-47.

Eberhard, W. G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton University Press. Princeton, New Jersey. pp: 7-8.

Emlen, S.T., y Oring, L.W. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of animal mating systems, *Science* **197**, 215-223.

Epple, G., Belcher, A. M., y Smith III, A. B. 1986. Chemical signals in callitrichid monkeys: a comparative review. En: *Chemical Signals in Vertebrates 4: Ecology, Evolution and Comparative Biology*. (Ed. por D. Duvall, D. Mueller-Schwarze, y R. M. Silverstein) pp. 653-672, New York: Plenum Press.

Estep, D., Bruce, K., Johnston, M., y Gordon, T. 1984. Sexual behavior of group stumptailed macaques (*Macaca arctoides*): temporal, demographic and sociosexual relationships. *Folia Primatologica* **42**, 115-126.

Estes, R.D. 1972. The role of vomeronasal organ in mammalian reproduction. *Mammalia* **36**, 315-341.

Estrada, A., 1984. Male-infant interactions among free-ranging stumptail macaques. En: *Primate Paternalism: An Evolutionary and Comparative View of Male Investment*. (Ed. por D. Taub) pp. 56-87, New York: Van Nostrand Reinhold Co.

Estrada, A., y Estrada, A., 1976. Birth and breeding cyclicity in an outdoor living stumptail macaque (*Macaca arctoides*) group. *Primates* **17**, 225-231.

Ferris, C. F., Snowdon, C. T., King, J., Doung, T., Ziegler, T. E., Ugurbil, K., Ludwig, R., Schultz-Darken, N. J., Wu, Z., Olson, D., Sullivan, Jr., J., Tannenbaum, P., y Vaughan, J. 2001. Functional imaging of brain activity in conscious monkeys responding to sexually arousing cues. *Neuroreport* **12**, 2231-2236.

Fedigan, L. 1982. Sociosexual behavior. En: *Primate Paradigms*. (Ed. por L. Fedigan) pp. 137-165, Chicago: The University of Chicago Press.

Fernández-Fewell, G. D., y Meredith, M. 1994. C-fos expression in vomeronasal pathways of mated or pheromone-stimulated male golden hamsters: contributions from vomeronasal sensory input and expression related to mating performance. *Journal of Neuroscience* **14**, 3643-3654.

Fernández-Fewell, G. D., y Meredith, M. 1998. Olfactory contributions to Fos expression during mating in inexperienced male hamsters. *Chemical Senses* **23**, 257-267.

Fiber, J., y Swann, J. 1996. Testosterona diferencialmente influye en la expresión de fos en regiones límbicas de hamsters sirios. *Hormones and Behavior* **30**, 455-473.

Fooden, J., 1990. The bear macaque, *Macaca arctoides*: a systemic review. *Journal of Human Evolution* **19**, 607-686.

Freeman, M. 1988. The ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction* (Ed. por E. Knobil, y J. Neill) pp. 1893-1928, New York: Raven Press.

Geary, D. 1998. *Male, Female. The Evolution of Human Sex Differences*. Washington, D.C.: American Psychological Association.

Gelez, H., y Fabre-Nys, C. 2004. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems. *Hormones and Behavior* **46**, 257-271.

Glander, K. E. 1980. Reproduction and population growth in free-ranging mantled howling monkeys. *American Journal of Physical Anthropology* **53**, 25-36.

Goldfoot, D. A., Slob, A. K., Scheffler, G., Robinson, J. A., Wiegand, S. J., y Cords, J. 1975. Multiple ejaculations during prolonged sexual test and lack of resultant serum testosterone increases in male stump-tail macaque (*M. arctoides*). *Archives of Sexual Behavior* **4**, 547-60.

González, R., Orgeur, P., y Signoret, J. P., 1988. Luteinizing hormone, testosterone and cortisol responses in rams upon presentation of oestrous females in the nonbreeding season. *Theriogenology* **30**, 1075-1086.

Halpern, M., y Martínez-Marcos, A. 2003. Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Progress in Neurobiology* **70**, 245-318.

Herbert, J. 1970. Hormones and reproductive behavior in rhesus and talapoin monkeys. *Journal of Reproduction and Fertility* **11**, 119-140.

Heymann, E. 2001. Scent marking and sexual selection in neotropical primates. En: *Sexual Selection in Primates*, Göttinger Freilandtage: Abstracts, p. 24.

Hrdy, S. B. 1979. Infanticide among animals: A review, classification, and examination of the implications for the reproductive strategies of females. *Ethology and Sociobiology* **1**, 13-40.

Hrdy, S. B. 1981. *The Woman that Never Evolved*. Cambridge: Harvard University Press.

Hrdy, S. B., y Witthen, P. 1987. Patterning of sexual activity. En: *Primate Societies*. (Ed. por B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker) pp. 370-384, Chicago: University Press.

Hudson, R. y Distel, H. 1983. Nipple location by newborn rabbits: Evidence for pheromonal guidance. *Behaviour* **85**, 260-275.

Hudson, R. y Distel, H. 1986. Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on vomeronasal organ. *Physiology and Behavior* **37**, 123-128.

James, P.J., y Nyby, J.G. 2002. Testosterone rapidly affects the expression of copulatory behavior in house mice (*Mus musculus*). *Physiology and Behavior* **75**, 287-294.

Johnston, R. 2003. Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. *Journal of Mammalogy* **84**, 1141- 1162.

Kamel, F., y Frankel, A., 1978. Hormone release during mating in the male rat: time course, relation to sexual behaviour and interaction with handling procedures. *Endocrinology* **103**, 2172-2179.

Kappeler, P. M. y van Schaik, C. P. 2002. Evolution of primate social systems. *International Journal of Primatology* **23**, 707-740.

Karlson, P. y Lüscher, M. 1959. "Pheromones": a new term for a class of biologically active substances. *Nature* **183**, 55-56.

Knobil, E., y J., Hotchkins. 1988. The menstrual cycle and its neuroendocrine control. En: *The Physiology of Reproduction*. (Ed. por E. Knobil, y J. Neill) pp. 1971-1994, New York: Raven Press.

Koyama, S., y Kamimura, S. 1999. Lowered sperm motility in mice of subordinate social status. *Physiology and Behavior* **65**, 655-669.

Koyama, S., y Kamimura, S. 2000. Influence of social dominante and female odor on the sperm activity of male mice. *Physiology and Behavior* **71**, 415-422.

Koyama, S. 2004. Primer effects by conspecific odors in house mice: a new perspective in the study of primer effects on reproductive activities. *Hormones and behavior* **46**, 303-310.

Kraus, C., Heistermann, M., y Kappeler, P. (1999). Physiological supression of sexual function of subordinate males: a subtle form of intrasexual competition among male sifakas (*Propithecus verreauxi*). *Physiology and Behavior*. **66**, 855-861.

Lawton, A. D., y Whitsett, J. M. 1979. Inhibition of sexual maturation by a urinary pheromone in male prairie deer mice. *Hormones and Behavior* **13**, 128-138.

Lazaro-Perea, C., Snowdon, C.T. y Arruda, M.F. 1999. Scent-marking behavior in wild groups of common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **46**, 313-324.

Lee, S., Miselis, R., y Rivier, C. 2002. Anatomical and functional evidence for a neural hypothalamic-testicular pathway that is independent of the pituitary. *Endocrinology* **143**, 4447-4461.

Lencioni, L. J., 1971. El Colpocitograma: Manual de los Extendidos Vaginales en el Estudio de la Función Ovárica y Placentaria de la Mujer. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Linnankoski, I., Hytönen, Y., Leinonen, L., y Hyvärinen., J., 1981. Determinants of sexual behavior of *Macaca arctoides* in a laboratory colony. *Archives of Sexual Behavior* **2**, 207-222.

Macrides, F., Clancy, A. N., Singer, A. G., y Agosta, W. C., 1984. Male hamster investigatory and copulatory responses to vaginal discharge: an attempt to impart sexual significance to an arbitrary chemosensory stimulus. *Physiology and Behavior* **33**, 627-632.

Mahesh, V. B., y Brann, D. W. 1996. Steroid control of hypothalamic function in reproduction. En: *CNS Neurotransmitters and Neuromodulator*. (Ed. por T.W. Store) pp. 177-209., Boca Raton, Fl.: CRS Press Inc.

Martin, I. G. 1980. "Homeochemic", intraspecific chemical signal. *Journal of Chemical Ecology* **6**, 517-519.

Martin, P., y Bateson, P. 1986. *Measuring Behaviour. An Introductory Guide*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 69-91.

Matsumuro, M., Sankai, T., Cho, F., y Yoshikawa, Y. 1999. A two-step extraction method to measure steroid hormones in female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *American Journal of Primatology* **48**, 291-298.

Mclean, J. H., y Shipley, M. T. 1992. Neuroanatomical substrates of olfaction. En: *Science of Olfaction*. (Ed. por M. Serby y K. Chobor), pp. 126-170, New York: Springer-Verlag.

Meredith, M. 1998. Vomeronasal, olfactory, hormonal convergence in the brain: cooperation or coincidence? *Annals of the New York Academy of Sciences* **855**, 349-361.

Mertl, A.S. 1975. Discrimination of individuals by scent in a primate. *Behavioral Biology* **14**, 505-509.

Mesiarni, E., Mikhail, L., Baim, D., y Kunwar, P. 1998. Human olfactory bulb: aging of glomeruli and mitral cells and search for the accessory bulb. *Annals of the New York Academy of Sciences* **855**, 708-715.

Michael, R. P., y Keverne, E. 1968. Pheromones and the communication of sexual status in primates. *Nature London* **218**, 746-749.

Michael, R. P., y Keverne, E. B. 1970a. A male sex-attractant pheromone in rhesus monkey vaginal secretions. *Journal of Endocrinology* **46**, 20-21.

Michael, R. P., y Keverne, E. B. 1970b. Primate sex pheromones of vaginal origin. *Nature* **225**, 84-85.

Michael, R. P., y Welegalla, J. 1968. Ovarian hormones and the sexual behavior of the female rhesus monkey (*Macaca mulatta*) under laboratory conditions. *Journal of Endocrinology* **41**, 407-420.

Michael, R. P., y Wilson, M. 1974. Effects of castration and hormone replacement in fully adult male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Endocrinology* **95**, 50-159.

Michael, R. P., y Zumpe, D. 1982. Influence of olfactory signals on the reproductive behavior of social groups of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Journal of Endocrinology* **95**, 189-205.

Mitani, J. C., Gros-Louis, J., y Richards, A. 1996. Sexual dimorphism, the operational sex ratio, and the intensity of male competition in polygynous primates. *The American Naturalist* **147**, 966-980.

Mondragón-Ceballos, R. 1994. Zoosemiótica y cognición. En: *La Mente y el Comportamiento Animal: Ensayos en Etología Cognitiva*. (Ed. por J. Díaz), pp. 75-90, México: UNAM, Fondo de Cultura Económica.

Monti-Bloch, L., y Grosser, B. 1991. Effect of putative pheromones on the electrical activity of the human vomeronasal organ and olfactory epithelium. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **39**, 573-582.

Monti-Bloch, L., Jennings-White, C., Dolberg, D. S., y Berliner, D. L. 1994. The human vomeronasal system. *Psychoneuroendocrinology* **19**, 673-686.

Monti-Bloch, L., Díaz-Sánchez, V., Jennings-White, C., y Berliner, D. L. 1998. Modulation of serum testosterone and autonomic function through stimulation of the male human vomeronasal (VNO) with pregna-4,20-diene-3,6-dione. *Journal of Steroid Biochemistry*. **65**, 237-242.

Mora, O. A., García Castineiras, S., Guisado, S., y Ezquerro, C., 1990. Nasal instillation of female urine or vaginal exudate on testosterone secretion in isolated and anesthetized male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Life Sciences* **46**, 1359-1365.

Murray, D., Bour, E., y Smith, O., 1985. Female menstrual cyclicity and sexual behavior in stumptail macaques (*Macaca arctoides*). *International Journal of Primatology* **6**, 101-113.

Nieuwenhuijsen, K., De Neef, K., y Slob, S. 1986. Sexual behaviour during ovarian cycles, pregnancy and lactation in group-living stumptail machaques (*Macaca arctoides*). *Human Reproduction* **1**, 159-169.

Niemeyer, C. L., y Chamove, A. S. 1983. Motivation of harassment of matings in stumptailed machaques. *Behaviour* **87**, 298-323.

Nieuwenhuijsen, K., De Neef, K., Van der Werff ten Bosch, J., y Slob, S., 1987. Testosterone, testis size, seasonality, and behavior in group-Living stumptail macaques (*Macaca arctoides*). *Hormones and Behavior* **21**, 153-169.

Nunn, C. L. 1999. The evolution of exaggerated sexual swellings in primates and the graded-signal hypothesis. *Animal Behaviour*. **58**, 229-246.

Oomura, Y., Yoshimatsu, H., y Aou, S., 1983. Medial preoptic and hypothalamic neuronal activity during sexual behavior of the male monkey. *Brain Research* **266**, 340-343.

Pagel, M., 1994. The evolution of conspicuous oestrus advertisement in Old World Monkeys. *Animal Behaviour* **47**, 1333-1341.

Papka, R., y Williams, S. 1999. Vagina. En: *Encyclopedia of Reproduction*. (Ed. por E. Knobil y J. D. Neill), pp. 961-968, San Diego: Academic Press.

Paul, A. 2002. Sexual selection and mate choice. *International Journal of Primatology* **23**, 877-904.

Pelaez del Hierro, F., Sánchez, R., y Gil, C. 1996. Supresión de la reproducción en primates. En: *Etología, Psicobiología Comparada y Comportamiento Animal*. (Ed. por F. Colmenares) pp. 315-339, Madrid: Síntesis. S. A.

Perachio, A., Marr, L. D., y Alexander, M. 1979. Sexual behavior in male rhesus monkeys elicited by electrical stimulation of preoptic and hypothalamic areas. *Brain Research* **177**, 127-144.

Phoenix, C. H., Dixson, A. F., y Resko, J. A. 1977. Effects of ejaculation on levels of testosterone, cortisol and luteinizing hormone in ppherical plasma of rhesus monkeys. *Journal of Comparative Physiological Psychology* **91**, 120-127.

Plavcan, J. M. 1999. Mating systems, intrasexual competition and sexual dimorphism in primates. En: *Comparative Primate Socioecology*, Ed. por P. C. Lee. pp: 241-260. Cambridge University Press.

Radwan, J. 1995. On oestrous advertisement, spite and sexual harassment. *Animal Behaviour* **49**, 1399-1400.

Rodman, P. S, y Mitani, J. C. 1987. Orangutans: Sexual dimorphism in a solitary species. En: *Primate Societies*. (Ed. por B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker), pp. 146-154, Chicago: University Press.

Rodríguez, I. 2004. Pheromone receptors in mammals. *Hormones and Behavior* **46**, 219-230.

Roonwal, M., y Mohnot, S. 1977. *Primates of South Asia: Ecology, Sociobiology and Behaviour*. Cambridge: Harvard University Press.

Sachs, B. D. 1999. Airborne aphrosidiac odor from estrous rats: implication for pheromonal classification. En: *Advances in chemical signals in vertebrates*. (Ed. por R. E. Johnsthor, D. Müller-Schwarze, y P.W. Sorensen) pp. 333-342, New York: Kluwer Academic Publishers Plenum Press.

Sandford, L. M., Palmer, W. M., y Howland, B. E. 1974. Influence of sexual activity on serum levels of testosterone in the ram. *Canadian Journal of Animal Sciences* **54**, 579-585.

Sapolsky, R. 1993. The physiology of dominance in stable versus unstable social hierarchies. En: *Primate Social Conflict*. (Ed. por W. Mason, S. Mendoza), pp. 171-204, New York: Plenum Press.

Schaal, B., Coureaud, G., Langlois, D., Giniés, Ch., Sémon, E., Perrier, G. 2003. Chemical and behavioural characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature*. **424**, 68-72.

Schilling, A., y Perret, M., 1987. Chemical signals and reproductive capacity in a male prosimian primate (*Microcebus murinus*). *Chemical Senses* **12**, 143-158.

Schilling, A. 1995. sexual responses to urinary chemosignals depend on photoperiod in a male primate. *Physiology and Behavior* **58**, 633-639.

Schwarzenberger, F., Möstl, E., Palme, R., and Bamberg, E. 1996. Faecal steroid analyses for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Animal Reproduction Science* **42**, 515-526.

Sekulic, R., y Eisenberg, J. F. 1983. Throat-rubbing in red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). En: *Chemical Signals in Vertebrates*. (Ed. por D. Muller-Schwarze y R. M. Silverstein), pp. 347-350, New York: Plenum Press.

Seller, A. 1987. Communication by sight and smell. En: *Primate Societies*. (Ed. by B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker), pp. 433-439, Chicago: Chicago University Press.

Setchell, J. M. y Dixon, A. F. 2001. Circannual changes in the secondary sexual adornments of semifree-ranging male and female mandrills (*Mandrillus sphinx*). *American Journal of Primatology* **53**, 109-21.

Shinohara, K., Morofushi, M., Funabashi, T., Mitsushima, D., Kimura, F. 2000. Effects of 5 α -Androst-16-en-3 α -ol on the pulsatile secretion of luteinizing hormone in human females. *Chemical Senses* **25**, 465-467.

Shively, C., Clarke, S., King, N., Sehapiro, S., y Mitchell, G. 1982. Patterns of sexual behavior in male macaques. *American Journal of Primatology* **2**, 373-384.

Signoret, J. 1991. Sexual pheromones in the domestic sheep: importance and limits in the regulation of reproductive physiology. *Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology* **39**, 639-645.

Singer, A. 1991. A chemistry of mammalian pheromones. *Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology* **39**, 627-632.

Singer, A., Macrides, F., Clancy, A., y Agosta, A. 1986. Purification and analysis of a proteinaceous aphrodisiac pheromone from hamster vaginal discharge. *Journal of Biological Chemistry* **261**, 13323-13326.

Singh, S. 1993. Adaptive significance of female physical attractiveness: Role of waist-to-hip ratio. *Journal of Personality and Social Psychology* **65**, 293-307.

Slob, A., Baum, M., y Schenck, P. 1978a. Effects of the menstrual cycle, social grouping, and exogenous progesterone on heterosexual interaction in laboratory housed stumptail macaques (*M. arctoides*). *Physiology and Behavior* **21**, 915-921.

Slob, A., Wiegand, S., Goy, W., y Robinson, J. 1978b. Heterosexual interactions in laboratory-housed stumptail macaques (*Macaca arctoides*): Observations during the menstrual cycle and after ovariectomy. *Hormones and Behavior* **10**, 193-211.

Small, M. 1993. *Female Choices: Sexual Behavior of Female Primates*. Ithaca and London: Cornell University Press.

Smith, T. D., y Abbott, D. 1998. Behavioral discrimination between circumgenital odor from peri-ovulatory dominant and anovulatory female common marmosets (*Callithrix jacchus*). *American Journal of Primatology* **46**, 265-284.

Smith, T.D., Siegel, M.I., Bonar, C.J., Bhatnagar, K.P., Mooney, M.P., Burrows, A.M., Smith, M.A., Maico, L.M. 2001. The existence of the vomeronasal organ in postnatal chimpanzees and evidence for its homology with that of humans. *Journal of Anatomy* **198**, 77-82.

Smuts, B. 1987. Sexual competition and mate choice. En: *Primate Societies*. (Ed. por B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker), pp. 385-399, Chicago: University Press.

Soltis, J., Mitsunaga, F., Shimizu, K., Yanagihara, Y., y Nozaki, M. 1997. Sexual selection in Japanese macaques I: female choice or sexual coercion? *Animal Behaviour* **54**, 725-736.

Stensaas, L., Lavker, R., Monti-Bloch, L., Grosser, B., Berliner, D. 1991. Ultrastructure of the human vomeronasal organ. *Journal of Steroid Biochemical Molecular Biology* **39**, 553-560.

Stern, K., y McClintock, M. 1998. Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature* **12**,177-179.

Stocco, D., 1999. Testosterone biosynthesis. En: *Encyclopedia of Reproduction*. (Ed. por E. Knobil y J. D. Neill), pp. 784-789, San Diego: Academic Press.

Sutcliffe, A. G., Pool, T. B. 1978. Scent marking and associated behaviour in captive marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*) with a description of the histology of the scent glands. *Journal of Chemical Ecology* **23**, 2523-2546.

Vandenberg, J.G., 1969. Endocrine coordination in monkeys: male sexual responses to the female. *Physiology and Behavior* **4**, 261-264.

Van Schaik, C. P., Van Noordwijk, M. A., y Nunn, C. L. 1999. Sex and social evolution in primates. En: *Comparative Primate Socioecology*. (Ed. por P. C. Lee), pp. 204-240. Cambridge: Cambridge University Press.

Verrell, P. 1991. Illegitimate exploitation of sexual signalling systems and the origin of species. *Ethology Ecology and Evolution* **3**, 273-283.

Wallen, K., 2001. Sex and context: hormones and primate sexual motivation. *Hormones and Behavior* **40**, 339-357.

Walters, J., y Seyfarth, R. 1987. Conflict and Cooperation. En: *Primate Societies*. (Ed. por B. Smuts, D. Seyfarth, R. Wrangham, y T. Struhsaker), pp. 306-317, Chicago: University Press.

Williamson, D., y Dunbar, R. 1999. Energetics, time budgets and group size. En: *Comparative Primate Socioecology*, Ed. por P. C. Lee. pp: 320-338. Cambridge University Press.

Wirsig-Wiechmann, C. R. y Wiechmann, A. F. 2001. The prairie vole vomeronasal organ is a target for gonadotropin-releasing hormone. *Chemical Senses* **26**: 193-202.

Whitten, W. 1959. Ocurrance of anoestrus in mice caged in groups. *Journal of Endocrinology* **18**, 102-107.

Wilks, J. 1977. Endocrine characterization of the menstrual cycle of the stumptailed monkey (*Macaca arctoides*). *Biology of Reproduction* **16**, 474-478.

Wyatt, T. 2003. *Pheromones and Animal Behavior: Communication by Smell and Taste*. Cambridge: Cambridge University Press.

Zhang, J., y Webb, D. M. 2003. Evolutionary deterioration of the vomeronasal pheromone transduction pathway in catarrhine primates. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* **100**: 8337-8341.

Ziegler, T. E., Schultz-Darken, N. J., Scott, J. J., Snowdon, C. T., Ferris, C.F. 2005. Neuroendocrine response to female ovulatory odors depends upon social condition in male common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Hormones and Behavior* **47**, 56-64.

Zinner, D., y Deschner, T., 2000. Sexual swellings in female hamadryas baboons after male take-overs: "Deceptive" swellings as a possible female counter-strategy against infanticide. *American Journal Primatology* **52**, 157-168.

Zumpe, D., Clancy, A. N., Bonsall, R. W., y Michael, R. P. 1996. Behavioral responses to Depo-Provera, Fadrozole and estradiol in castrated, testosterone-treated cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*): the involvement of progestin receptors. *Physiology and Behavior* **60**, 531-540.

APÉNDICE

Esquema del diseño experimental del experimento 2.



1. Anestesiarnos al mono, se tomó la muestra basal de suero, y preparamos el tubo con las secreciones vaginales.



2. Expusimos al macho al olor de las secreciones vaginales. El tubo con los hisopos estaba conectado a una toma de aire.



3. Acercamos el tubo pequeño a los orificios nasales, utilizamos un cono de papeles para asegurar que el olor penetrara exclusivamente a la nariz.



4. Transcurridos los 2 min. de estímulo, retiramos el tubo y continuamos con la toma de suero.