



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD ACADÉMICA

**AGRESIÓN TERRITORIAL Y HORMONAS ESTEROIDES OVÁRICAS EN LA
HEMBRA DEL HÁMSTER ENANO (*Phodopus campbelli*).**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

JOSÉ ARIEL OLVERA RAMOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. ANA LILIA CERDA MOLINA
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA

DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS, UNAM

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD ACADÉMICA

**AGRESIÓN TERRITORIAL Y HORMONAS ESTEROIDES OVÁRICAS EN LA
HEMBRA DEL HÁMSTER ENANO (*Phodopus campbelli*).**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

JOSÉ ARIEL OLVERA RAMOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. ANA LILIA CERDA MOLINA
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA

DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS, UNAM

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO 2021.



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

OFICIO CPCB/1060/2021

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Evolutiva, Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 06 de septiembre de 2021 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de DOCTOR EN CIENCIAS del estudiante OLVERA RAMOS JOSÉ ARIEL con número de cuenta 96039780 con la tesis titulada "Agresión territorial y hormonas esteroides ováricas en la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*)", realizada bajo la dirección de la DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARIA ROSA DE LOURDES ÁVILA COSTA
Vocal: DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Vocal: DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUÍA STEYER
Vocal: DR. SERGIO CHÁZARO OLVERA
Secretario: DRA. ANA LILIA CERDA MOLINA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 04 de noviembre de 2021

COORDINADOR DEL PROGRAMA

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, la oportunidad para obtener mi Doctorado.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM, PAPIIT IN218319

AL CONACyT, CVU 226485

Agradezco también, por supuesto, a mis tutoras: la Dra. Juana Alba Luis Díaz (mi tutora principal), la Dra. Ana Lilia Cerda Molina y la Dra. Margarita Martínez Gómez.

Agradecimientos a título personal:

Agradezco a toda mi familia, su constante apoyo, sobre todo a mi mamá.

Además:

A la técnica de laboratorio, Profesora Carmen Álvarez, por su asistencia técnica, y de igual forma al Profesor Luis Romero, por su guía y dedicación en enseñarme el manejo y cirugías de los animales, y al Profesor Romeo Eduardo Loya Zurita por presentarme y guiarme en el tema. Y por supuesto, al Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez con la ayuda en el análisis de los datos.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Agresión territorial en las hembras	4
Bases endócrinas de la agresión	6
Modelo de estudio	14
Hipótesis	15
Objetivo general	15
Objetivos particulares	15
Material y métodos	16
Animales	16
Primer experimento	16
Segundo experimento	17
Cirugías: salpingoclasias, ovariectomías y vasectomías	18
Pruebas de residente-intruso	19
Extracción de muestra sanguínea	20
Análisis estadístico	21
Resultados	22
Primer experimento	22
Segundo experimento	25
Discusión	28
Conclusiones	33

Referencias bibliográficas	34
Anexo – artículo requisito	41

Resumen

Las hembras de varias especies de vertebrados son territoriales. Sin embargo, se han realizado pocos estudios acerca de la agresión en ellas, así como de las bases hormonales. El presente estudio tuvo el objetivo de determinar si la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*) muestra agresión territorial, así como el papel que el estradiol (E₂) y la progesterona (P₄) desempeñan en esta conducta. Se realizaron dos experimentos. Para el primero, 28 hembras vírgenes se aparearon con un número igual de machos sexualmente inexpertos. A las hembras se les practicó la salpingoclasia (ligación de los oviductos) dos semanas antes del apareamiento para evitar la preñez. Después de un periodo de apareamiento de 15 días, 16 de las 28 hembras se sometieron a pruebas de residente-intruso, mientras que las 12 restantes no se enfrentaron. 30 minutos después de las pruebas de agresión, se les tomaron muestras de sangre para determinar los niveles de E₂ y P₄ mediante ELISA. En el segundo experimento, se aparearon 40 hembras vírgenes con machos vasectomizados por 30 días, después de los cuales 10 hembras fueron ovariectomizadas y tratadas con E₂, 10 con P₄, 10 no recibieron hormonas y a las restantes se les practicó un procedimiento simulado. Todas estas hembras se sometieron a pruebas de residente-intruso, y al final se les tomaron muestras de sangre para cuantificar los niveles de E₂ y P₄ en la forma previamente descrita. Para el primer experimento, 87.5% de las hembras de hámster enano mostraron agresión territorial, y en el segundo experimento, fueron el 100%. La ovariectomía y la ovariectomía más el remplazo con E₂ o P₄ no tuvieron efecto sobre la conducta de agresión territorial. **Estos resultados demuestran que las hembras de esta especie son agresivas y territoriales, y que dicha conducta no depende de las hormonas esteroides ováricas.**

Abstract

Females of many vertebrate species are territorial. However, few studies have been performed on territorial aggression and its hormonal bases in females. The present study determined whether dwarf hamster females (*Phodopus campbelli*) display territorial aggression and the role that estradiol (E₂) and progesterone (P₄) play in this behavior. Two experiments were carried out. First, 28 virgin females were mated with sexually inexperienced males. The females were submitted to oviduct ligation 2 weeks before mating to prevent pregnancy. After 15 days of mating, 16 out of 28 females were submitted to resident - intruder tests, whereas the remaining 12 females were nonconfronted. Blood samples were collected 30 min after the aggression tests to determine E₂ and P₄ by ELISA. In the second experiment, 40 females were mated with vasectomized males. Thirty days after mating, 30 dwarf hamsters were subjected to ovariectomy; 10 were nontreated, 10 were treated with E₂, and 10 with P₄. The remaining 10 were sham - operated. All females were submitted to resident - intruder tests, and blood samples were taken to quantify E₂ and P₄. In the first experiment, 87.5% of dwarf hamster females displayed territorial aggression, and in the second, 100% of females were aggressive. Ovariectomy and ovariectomy plus E₂ or P₄ replacement did not affect aggressive territorial behavior. **These results showed that this species' females are territorial, and this behavior is not dependent on ovarian steroid hormones.**

AGRESIÓN TERRITORIAL Y HORMONAS ESTEROIDES OVÁRICAS EN LA HEMBRA DEL HÁMSTER ENANO (*Phodopus campbelli*).

Introducción.

La agresión es una conducta universal que tiene un amplio rango de funciones adaptativas; esta conducta constituye una estrategia para resolver conflictos y es desplegada cuando los intereses de dos o más individuos coespecíficos o de otra especie entran en conflicto por la competencia por recursos, la pareja y el territorio. La agresión está considerada como una forma de comunicación social sumamente eficiente, que permite el control activo de recursos y del ambiente social, por lo que es indispensable tanto para la supervivencia del individuo como de la población. Mediante la agresión, un individuo puede provocar un daño físico a sus oponentes; no obstante, tal daño físico, no siempre se consume, debido a que los animales pueden huir o desplegar posturas de sumisión (Soma, 2006; Demas *et al.*, 2007; de Boer, 2018).

Esta conducta puede clasificarse en varios subtipos, dependiendo de las circunstancias en las que se presenta y del objetivo hacia el cual va dirigida. Puede ser ofensiva, defensiva, indiscriminada o indirecta. La agresión ofensiva, generalmente ocurre entre conespecíficos, y es dirigida contra amenazas, peligros de ataques inminentes o ataques físicos. La agresión defensiva es exhibida en respuesta ante cualquier amenaza. La agresión indiscriminada o irritable es una reacción ante estímulos ambientales tan diversos como el calor, el hambre, el dolor o el miedo, sin que haya una provocación específica. Tal es el caso de las ratas que, luego de recibir un choque eléctrico, atacan a sus compañeras de jaula (Moyer, 1968). Por su parte, la agresión indirecta incluye despliegues de dominancia para la intimidación del oponente. Por ejemplo, el canto de las aves es un despliegue de agresión para la defensa de su territorio (Ramirez y Andreu, 2003). La agresión también puede ser clasificada como depredadora, que es desplegada durante la obtención de alimento; antidepredadora, en la que la presa se defiende del depredador; de dominancia, en la cual el individuo exhibe o emite signos como gruñidos o muestra armas naturales para indicar su dominancia; maternal, que es exhibida por una hembra lactante para defender a sus crías; agresión sexual es exhibida cuando se compete por la pareja y la agresión territorial. Esta última está asociada a la defensa

activa de un área sociogeográfica definida por un individuo o grupo. La función principal de la agresión territorial es mantener el acceso exclusivo a recursos limitados tales como, el alimento, el refugio o el espacio reproductivo (Scott y Frederickson, 1951; Nelson y Trainor, 2007; Scotti *et al.*, 2008; Trainor y Marler, 2010).

Agresión territorial en las hembras

Tradicionalmente, la mayoría de los trabajos sobre agresión se realizan en machos por considerarlos más agresivos y territoriales que las hembras, por lo que los estudios sobre agresión en hembras son menos comunes. Aquellos que si lo han hecho, han mostrado que las hembras también despliegan distintos tipos de agresión, incluida la territorial, y que se ha documentado en diversas especies de reptiles, aves y mamíferos (Hay y Pankhurst, 2005). Esta agresión es desplegada para defender el territorio de competidores. El territorio consiste en recursos como, alimento, refugio o sitios de apareamiento y la capacidad para mantener el acceso exclusivo a estos recursos puede ampliar su adecuación (“fitness”). La agresión territorial puede darse por la defensa de un territorio individual o perteneciente a un grupo social. En la mayoría de los casos el animal usa señales u otro tipo de signos indirectos para evitar el conflicto y no tener que recurrir al enfrentamiento físico (Duque-Wilckens y Trainor, 2017). Esta conducta implica entonces el uso controlado del espacio vital, la dispersión de la población evitando el aumento de la densidad poblacional y la distribución de los sexos. Estos últimos dos factores facilitan la formación de parejas para una reproducción exitosa (Calhoun, 1949; Scott y Frederickson, 1951).

Aunque las hembras preñadas presentan agresión materna, cabe hacer la distinción de que, en los contextos sociales de hembra no preñada o en la condición no maternal, la agresión desplegada hacia una intrusa se puede considerar agresión territorial, haciendo una distinción entre ambos tipos (Trainor y Marler, 2010). En las hembras de los roedores pertenecientes a especies monógamas, la agresión territorial tiene como función el mantenimiento de la estructura social, limitando a otras hembras el acceso a su pareja y asegurando su desempeño reproductivo (Woodley y Moore, 1999; Bebié y McElligott, 2006; Rosvall, 2013). Los recursos contenidos en su territorio pueden estar disponibles a largo plazo para las crías y contribuyen a evitar el infanticidio tanto por parte de los padres por canibalismo como por

otros conespecíficos. Para aquellas especies que viven en grupos, la competencia entre distintos grupos por recursos es una fuente importante de agresión, en la que los ataques pueden ser fatales, y las hembras pueden cooperar en la competencia contra los grupos rivales (Stockley y Bro-Jørgensen, 2011). Además, compiten por sitios de anidación, por machos que puedan proveer recursos de alta calidad, y en las especies biparentales, por los machos que provean más cuidados paternos (Floody, 1983; Bowler *et al.*, 2002; Davis y Marler, 2003; Jawor *et al.* 2006 y Rosvall, 2013). En algunas aves, como *Junco hemalis*, la agresión entre hembras parece limitar el número de hembras que puede aparearse con un macho, favoreciendo de esta forma la monogamia. En roedores de laboratorio (ratas, ratones y hamsters), en ciervo *Cervus elaphus* y en lagartija *Sceloporus jarrovi* la agresión entre hembras también limita el desempeño reproductivo de los machos al evitar el acceso de otras hembras a su territorio (Woodley y Moore, 1999; Bebié y McElligott, 2006; Rosvall, 2013).

La agresión en hembras también puede ser independiente del aspecto reproductivo; las hembras de varias especies monógamas, solitarias o de crianza cooperativa son tan agresivas, como los machos, y pueden resultar heridas o muertas en las disputas territoriales. Por ejemplo, en el mono-búho *Aotus asarai*, que vive en grupos integrados por una hembra y un macho reproductor, acompañados por jóvenes de la especie, la hembra y el macho defienden su territorio contra intrusos de su mismo sexo (es decir, las hembras enfrentan por lo general solo a otras hembras y los machos solo a otros machos) (citado en Clutton-Brock y Huchard, 2013). Las hembras de la rata topo *Heterocephalus glaber*, habitan en grupos formados por una hembra reproductora y de uno a tres machos reproductores, además de varios acompañantes. En esta condición poliándrica la hembra defiende su territorio. Asimismo, las hembras del suricato *Suricata suricatta*, especie monógama (cuyos grupos están formados 3 o 4 unidades familiares integradas por una hembra, un macho y sus crías), defienden fuertemente su territorio de conespecíficos, principalmente cuando son dominantes (Clutton-Brock *et al.*, 2006). Las peleas entre hembras también son comunes en las especies polígamas y alcanzan su máximo en la temporada reproductiva. En la mayoría de las especies el aumento de la agresión durante las peleas entre hembras no es tan frecuente e intensa, como en los machos, debido a que, en éstos, salir victoriosos de un enfrentamiento aumentan sus posibilidades de reproducción. Además, en las hembras, los costos acumulados asociados

con el aumento de la agresión son más altos que en los machos. Pueden sufrir heridas fatales que afectan tanto su supervivencia, como la de sus crías (Clutton-Brock y Huchard, 2013).

Bases endócrinas de la agresión

En la mayoría de los vertebrados estudiados se ha demostrado que la testosterona (T) gonadal es la hormona que mantiene la agresión territorial, principalmente en machos. La T es una hormona esteroide involucrada en el proceso de masculinización, como quedó demostrado por los experimentos hechos por Jost en 1950, en los que, al castrar embriones machos de conejo, estos se desarrollaban como hembras. Actualmente se sabe que la T y otros andrógenos están involucrados en el proceso de diferenciación sexual del cerebro. Existen tres distintas rutas biosintéticas para la formación de andrógenos y sus metabolitos, donde ejercen su acción uniéndose a receptores a andrógenos. Es además el sustrato para la formación de la hormona estradiol (E₂) (Neill, 2006; Storbeck *et al.*, 2019) (Fig. 1).

Los primeros experimentos sobre la relación entre la agresión y la T en roedores se realizaron en el ratón de laboratorio (*Mus musculus*), en este demostró que la castración reduce o elimina la agresión entre machos, y puede restituirse con el reemplazo de T (Uhrich, 1938). El mismo resultado se ha obtenido en los machos pertenecientes a otras especies de roedores tales como, la rata laboratorio (*Rattus norvegicus*), el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*) y el hámster sirio (*Mesocricetus auratus*) (Soma, 2006; Scotti *et al.*, 2008; Trainor y Marler, 2010). En el ciervo rojo *Cervus elaphus*, un mamífero artiodáctilo, la castración también disminuye la agresión territorial y el reemplazamiento con T restablece las conductas territoriales durante la época de celo (Lincoln *et al.*, 1972).

La relación T y agresión también ha sido observada en las hembras de algunas especies de vertebrados, principalmente en las aves; por ejemplo, en el acentor común *Prunella modularis*, cuando se separa al macho del grupo de hembras con el que habita (en los grupos con que presentan hábitos poligínicos), estas últimas compiten entre ellas por la posición jerárquica dentro del grupo; tal competencia está asociada a una elevación en la concentración de T en sangre, que además se relacionó positivamente con la cantidad de cantos producidos durante los encuentros agresivos. Cabe mencionar que, en aquellas

hembras de hábitos monogámicos, esta elevación de T no ocurre (Langmore *et al.*, 2002; Goymann *et al.*, 2008; Rosvall, 2013). Las hembras de chochín (*Thryothorus leucotis*), en el periodo previo a la crianza, presentan un incremento de la concentración periférica de T después de encuentros agresivos ante la intrusión de otra hembra (Gill *et al.*, 2007).

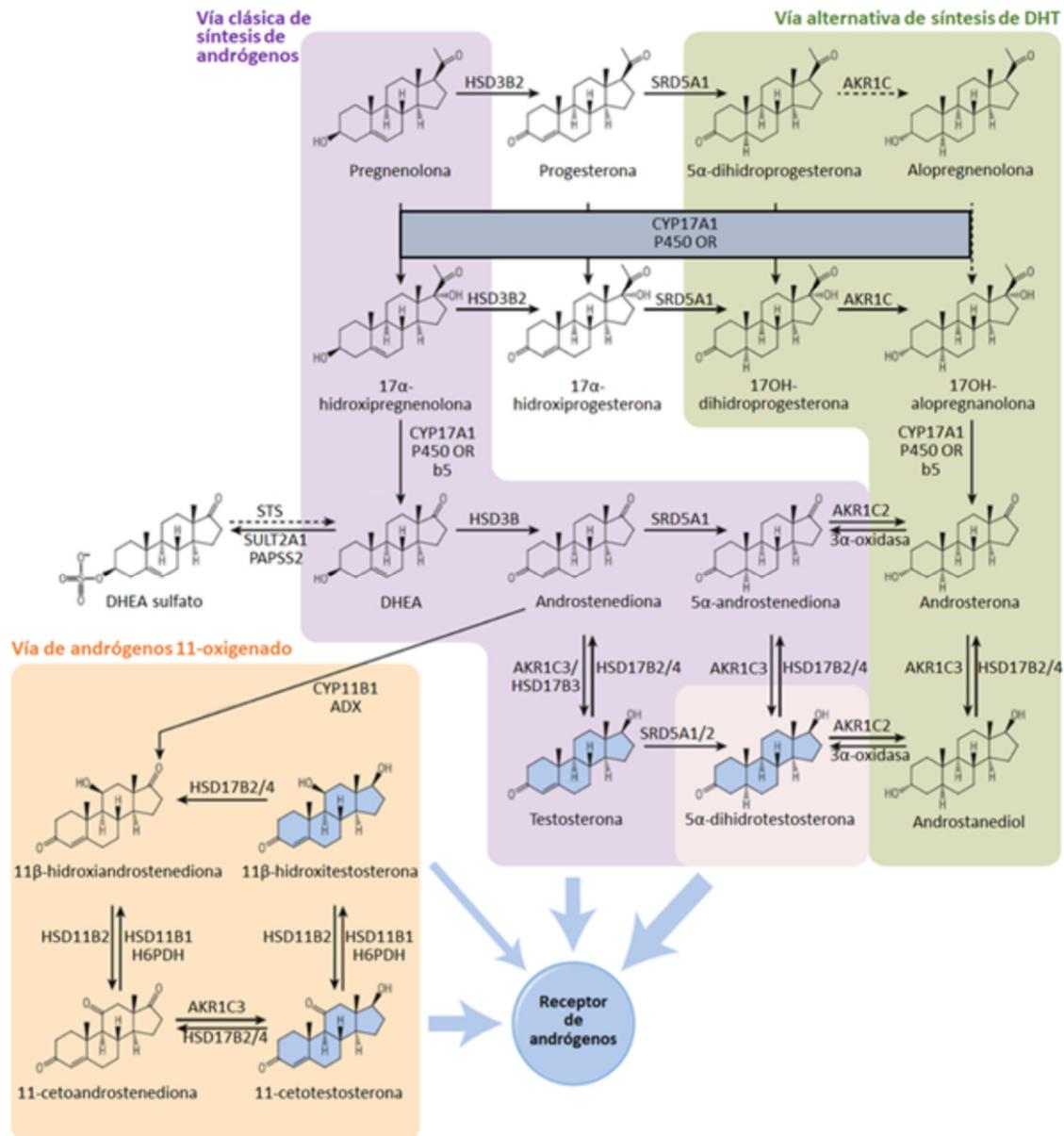


Figura 1. Esquema de las tres rutas biosintéticas de los andrógenos (humano). Schematic overview of the three major pathways of human androgen biosynthesis. La ruta clásica que termina en testosterona y dihidrotestosterona está marcada en morado, la ruta alternativa que termina en androstanediol que es convertido al andrógeno potenciado dihidrotestosterona está enmarcado en verde y la de los andrógenos 11-oxigenado que termina en hidroxitesterona y cetotestosterona en amarillo. Los andrógenos que ejercen su

acción uniéndose a receptores están marcados en azul. Abreviaturas: ADX, adrenodoxina; AKR1C3, aldoceto-reductasa familia 1 miembro C3; b5, citocromo b5; CYP11B1, 11β-hidroxilasa; DHEA, dehidroepiandrosterona; HSD3B, 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa; HSD11B, 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa; PAPSS2, 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato sintasa 2; POR, citocromo P450 oxidoreductasa; SRD5A1, 5-α reductasa; STS, esteroide sulfatasa; SULT2A1, DHEA sulfotransferasa. Tomado de Storbeck *et al.*, 2019. "Steroid Metabolome Analysis in Disorders of Adrenal Steroid Biosynthesis and Metabolism". *Endocrine Reviews*, 40(6):1605–1625.

Sin embargo, en otras especies no se ha observado relación entre T y agresión; por ejemplo, en el cucal negro *Centropus grillii*, en el que la hembra es la defensora del territorio (Goymann *et al.*, 2008), en el gorrión tejedor de ceja blanca *Plocepasser mahali*, el junco de ojo oscuro *Junco hyemalis* (Jawor *et al.* 2006), el ratón de California *Peromyscus californicus* (Davis y Marler, 2003) y el pez damisela *Acanthochromis polyacanthus* (Hay y Pankhurst, 2005).

En otras especies se ha encontrado que en efecto existe una relación entre la agresión y la disminución de T. Las hembras del gorrión melódico las concentraciones de T disminuyen después de pruebas de residente-intruso (Elekonich y Wingfield, 2000). En la iguana marina *Amblyrhynchus cristatus*, especie en la que la hembra compete por el establecimiento de nidos, la concentración de T periférica disminuye después de un encuentro agresivo, se cree que esta disminución se debe a que la T es convertida a estradiol (E₂) (Rubenstein y Wikelski, 2005) (Fig. 2).

El estudio de las bases neuroendócrinas de la agresión territorial en las hembras se complica aún más, por la falta de consistencia observada sobre el efecto de la ovariectomía en la agresión territorial. En roedores, como el gerbo de Mongolia (Anisko *et al.*, 1973), el ratón de patas blancas *Peromyscus leucopus* (Gleason *et al.*, 1979) y la rata de laboratorio (Barr *et al.*, 1976; DeBold y Miczek, 1981) la ovariectomía incrementa la agresión territorial (Floody, 1983). Asimismo, en los leminos *Dicroctonyx groenlandicus* (Hasler y Banks, 1976) y en *Lemmus trimucronatus* (Huck *et al.*, 1979), la ovariectomía también incrementa la agresión. Mientras que en los topillos de duna *Clethrionomys glareolus*, la ovariectomía elimina la agresión, pero esta conducta se restablece al administrarles T, progesterona (P₄) y P₄ + E₂ (Kapusta, 1998). La inconsistencia en los resultados sobre la regulación endócrina de la

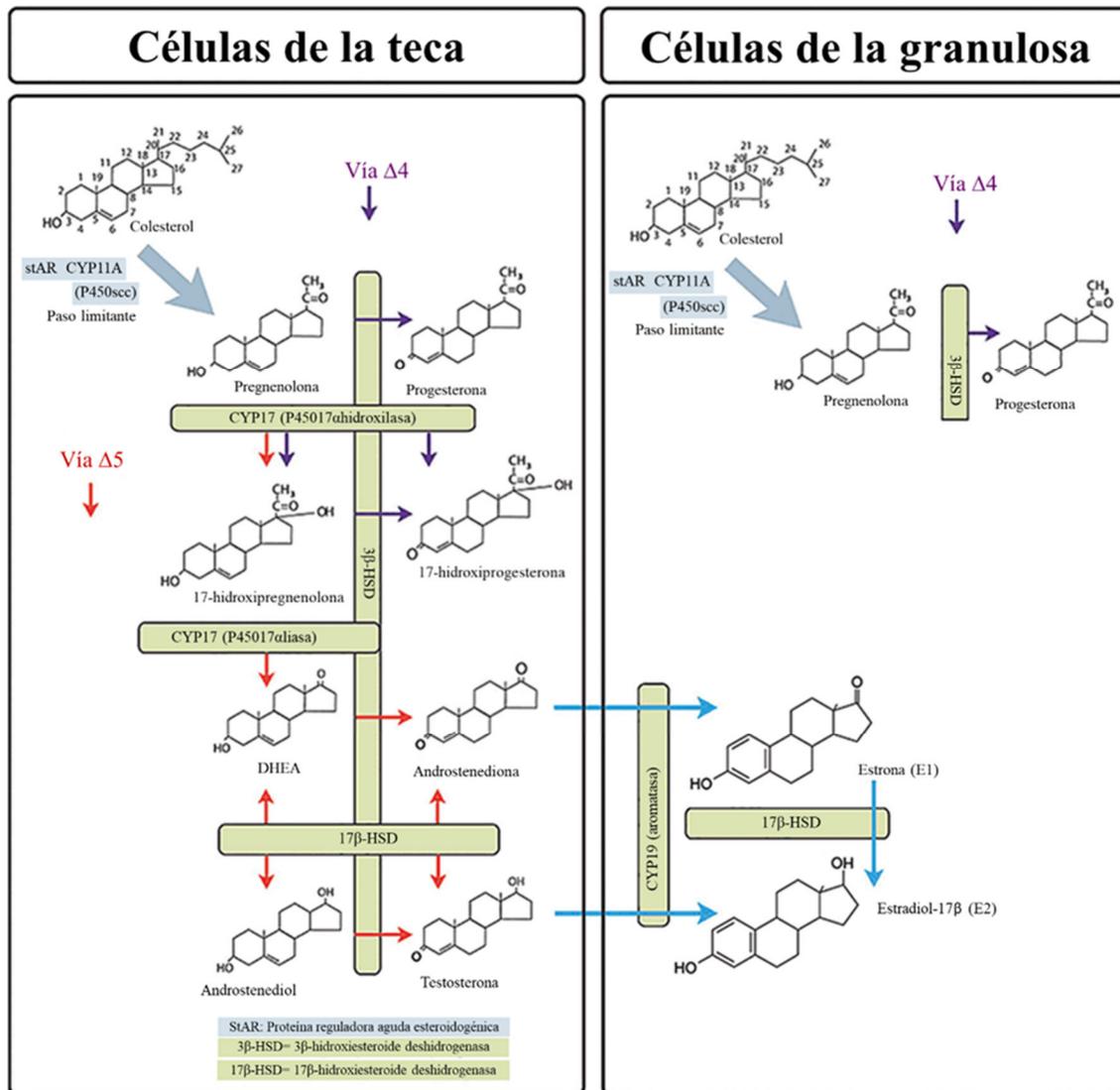


Figura 1. Esteroidogénesis en el ovario (humano). La síntesis de esteroides comienza con ésteres de colesterol que son transformados a pregnenolona por acción de la P450scc. Una de las rutas (flecha roja) es la vía Δ5 por acción de la CYP17 (P45017 α-hidroxi-lasa). La hidroxilación de la pregnenolona en la posición C17 forma 17-hidroxi-pregnenolona, y con la subsecuente remoción del grupo acetil se forma DHEA (dehidroepiandrosterona). Otra ruta del metabolismo de la pregnenolona es la vía Δ4 (flecha morada), en la que este esteroide es metabolizado a P₄, por la acción de la 3β-HSD (3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa). La P₄ es entonces transformada en 17-hidroxi-progesterona por acción de la CYP17. La aromatización de los andrógenos a estrógenos se debe a una actividad distinta en las células granulosa inducida por la FSH. La T es transportada de las células de la teca a las de la granulosa, en las cuales es aromatizada a E₂ por acción de la CYP19 (aromatasa citocromo P450). Esta hormona actúa directamente sobre las células de la granulosa para estimular el crecimiento folicular. También se puede formar estrona en las células de la granulosa por acción de la CYP19 sobre la androstenediona proveniente de las células de la teca, que a su vez se puede transformar a E₂ por acción de la 17β-HSD (17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa). Tomado de

“Gonadotropin in Assisted Reproduction: An Evolution Perspective”, Ferreira Leão R., Esteves S. 2015. En: “Unexplained Infertility: Pathophysiology, Evaluation and Treatment”, Schattman G., Esteves S., Agarwal A. 2015. Springer, New York, NY.

agresión territorial puede atribuirse a los diseños experimentales, en especial a las condiciones de encierro previas a las pruebas de residente-intruso, que incluyen el confinamiento de hembras en su jaula en solitario o acompañadas de otras congéneres, el apareamiento por pares de hembra-macho o colectivo (es decir, varias hembras y machos) entre otros. Las condiciones de encierro son factores relevantes que influyen en la agresión territorial; por ejemplo, el aislamiento no es un modelo apropiado para el estudio de la agresión territorial ya que esta provoca estrés (Weiss *et al.*, 2004).

Varios estudios señalan que la T promueve la agresión a través de su conversión a 17-B-estradiol, por acción de la enzima aromatasa, en las áreas neurales que regulan esta conducta (Rosvall, 2013). En las ratas, la regulación de la agresión en los machos involucra a los receptores alfa estrógenos (ER α) y beta estrógenos. En el macho del ratón de laboratorio, tanto el “knockout” para el gen de la aromatasa *cyp19*, como del tipo α ERKO (para receptores ER α), eliminan la agresión; mientras que el “knockout” para el receptor beta estrógenos la incrementa, aunque esto sólo ocurre en individuos jóvenes (Ogawa *et al.*, 1997; Nomura *et al.*, 2002). En la hembra del pájaro *Luscinia svenica svecica* que defienden su territorio a través del canto, se ha podido observar que la agresión está relacionada con la concentración periférica de E₂ (Pärn *et al.*, 2008).

Por otra parte, en las hembras de algunas especies de vertebrados estacionales, donde ocurre la regresión ovárica con la consecuente disminución de las hormonas que producen, no se afecta la agresión. Por ejemplo, la hembra del gorrión melódico, la cual delimita su territorio mediante el canto (considerado en las aves un despliegue territorial agresivo), exhibe esta conducta fuera de la temporada reproductiva, cuando sus ovarios se encuentran en regresión (Elekovich y Wingfield, 2000). Este mismo fenómeno se observa en la hembra del hormiguero moteado *Hylophylax naevioides naevioides*, que defiende su territorio todo el año (Hau *et al.*, 2000). La hembra del hámster siberiano *Phodopus sungorus* es altamente territorial fuera de la estación reproductiva, cuando los ovarios se encuentran en regresión. En este roedor, se ha propuesto que las hormonas adrenales, principalmente el andrógeno

precursor dehidroepiandrosterona (DHEA), mantienen la agresión territorial fuera de la temporada reproductiva. Este esteroide puede ser utilizado como sustrato para la síntesis de esteroides activos en el tejido neural (Scotti *et al.*, 2008; Boonstra *et al.*, 2008; Gutzler *et al.*, 2009). Por ejemplo, en el gorrión melódico la DHEA es transformada en androstenediona (forma activa en el cerebro) por acción de la enzima aromatasa 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ Δ 5- Δ 4 isomerasa (3 β -HSD) (Soma *et al.*, 2008; Pradhan *et al.*, 2010). Investigaciones recientes sugieren que la DHEA puede producirse en el cerebro de los mamíferos; en la rata se ha identificado la expresión de RNAm de las enzimas esteroidogénicas que participan en la síntesis de esta prohormona (P450scc, P450c17, P450 y 3 β -HSD). Esto sugiere un origen neural para el 17 α - y el 17 β - estradiol en la regulación de la agresión (Fig. 1) (Soma *et al.*, 2008).

La P₄ también se ha asociado con la regulación de la conducta agresiva en las hembras, aunque sus efectos están en función de la especie y el contexto en el que se estudia (Elekovich y Wingfield, 2000). La administración de dosis altas de P₄ disminuye la agresión territorial en hembras de conejillo de indias *Cavia porcellus* ovariectomizadas. Sin embargo, en hembras intactas del ratón de California, la P₄ disminuye después de una prueba de agresión (Davis y Marler, 2003). Contrariamente, en la iguana marina de las Galápagos, la P₄ aumenta después de un encuentro agresivo (Rubenstein y Wikelski, 2005). En la rata de laboratorio, hembras ovariectomizadas con implantes de T (2.6 ng/ml), E₂ (0.06 ng/ml) y P₄ (70 ng/ml) son menos agresivas en comparación con aquellas que solo son tratadas con T y E₂ (Albert *et al.*, 1992). Se ha propuesto que la P₄ afecta la agresión disminuyendo la expresión del RNAm del receptor a andrógenos, esto se ha observado en los machos del conejillo de indias *C. porcellus* (Connolly y Resko, 1989) y de las lagartijas *Cnemidophorus inornatus* (Crews *et al.* 1996). También puede actuar por vía indirecta, pues los metabolitos de la P₄ se unen a receptores GABA_A (que también puede estimular la agresión), o de forma directa, uniéndose a receptores a P₄ o al receptor de andrógenos (Crews *et al.* 1996; Goymann *et al.*, 2008).

Los resultados de los estudios mencionados acerca de la regulación hormonal de la agresión en hembras, que además de escasos en comparación con los realizados en machos son marcadamente heterogéneos, permiten deducir que, a diferencia de los machos, la agresión territorial en las hembras es independiente de una elevación en la concentración de T

sistémica. Esto puede deberse a que altos niveles de T tienen efectos negativos en su fecundidad, ya que retrasan la reproducción al modificar las proporciones entre las concentraciones de otras hormonas como el E₂ y P₄ propios de los ciclos estrales que inducen conductas de anidamiento, aceptación del macho, además de alterar las conductas asociadas a la elección de pareja (Goymann *et al.*, 2008; Rosvall, 2013; Duque-Wilckens y Trainor, 2017).

La agresión territorial en las hembras también se ha asociado con la etapa del ciclo estral (Fig. 3). La mayoría de las hembras de roedores tienen un ciclo reproductivo de entre 3-5 días, caracterizados por fluctuaciones hormonales que promueven la ovulación. En el hámster sirio, las hembras son más agresivas que los machos al defender su territorio durante el proestro y el diestro, coincidiendo con un período de aumento progresivo de hormonas. Además, no muestran efecto de derrota después de ser enfrentadas y perder un encuentro con hembras familiares, es decir, no se modifica su desempeño en futuros enfrentamientos aun a pesar del desenlace de encuentros pasados (Bath y Johnston, 2007).

Las hembras del hámster sirio en estro (fase en que ocurre la ovulación), reducen la intensidad de la agresión hacia los machos; esto se ha relacionado con la reducción en las concentraciones de E₂ y P₄ (Floody y Pfaff, 1977; Neill, 2006). Este cambio en la conducta sería una adaptación que permitiría el acercamiento del macho al tornarse receptiva al momento de la ovulación. En el ratón de laboratorio, las hembras son más agresivas contra otras hembras en el proestro y metaestro (Hyde y Sawyer, 1977). En el ratón de patas blancas, las hembras muestran mayor agresividad contra sus congéneres en el proestro (Gleason *et al.*, 1979). Las hembras del ratón de California son más agresivas hacia otras hembras cuando están en proestro y estro. Esta especie es monógama, con cuidados biparentales y tanto el macho, como la hembra defienden el territorio. La hembra compite por el macho, y por tanto es la responsable de la dispersión de la especie. En las hembras de este roedor las concentraciones sistémicas de T disminuyen después de un encuentro agresivos, cuando están en diestro (Davis y Marler, 2003) (Fig. 3).

Otros factores que modifican la conducta agresiva son los cuidados parentales otorgados y su relación con la tendencia a la monogamia o a la poligamia. Cuando los padres otorgan cuidados parentales durante más tiempo, como es el caso de la especie biparental *Peromyscus*

californicus, la progenie es más agresiva comparados con aquellos que tienen cuidados parentales más cortos como *Peromyscus leucopus* y que presentan una mayor tendencia a la poligamia. Incluso este patrón conductual se mantiene al intercambiar las crías entre los padres de estas especies. Cabe mencionar, que en estas especies de *Peromyscus* en particular, el factor que promueve el cambio en la conducta es el periodo de cuidado materno (Bester-Meredith y Marler, 2003).

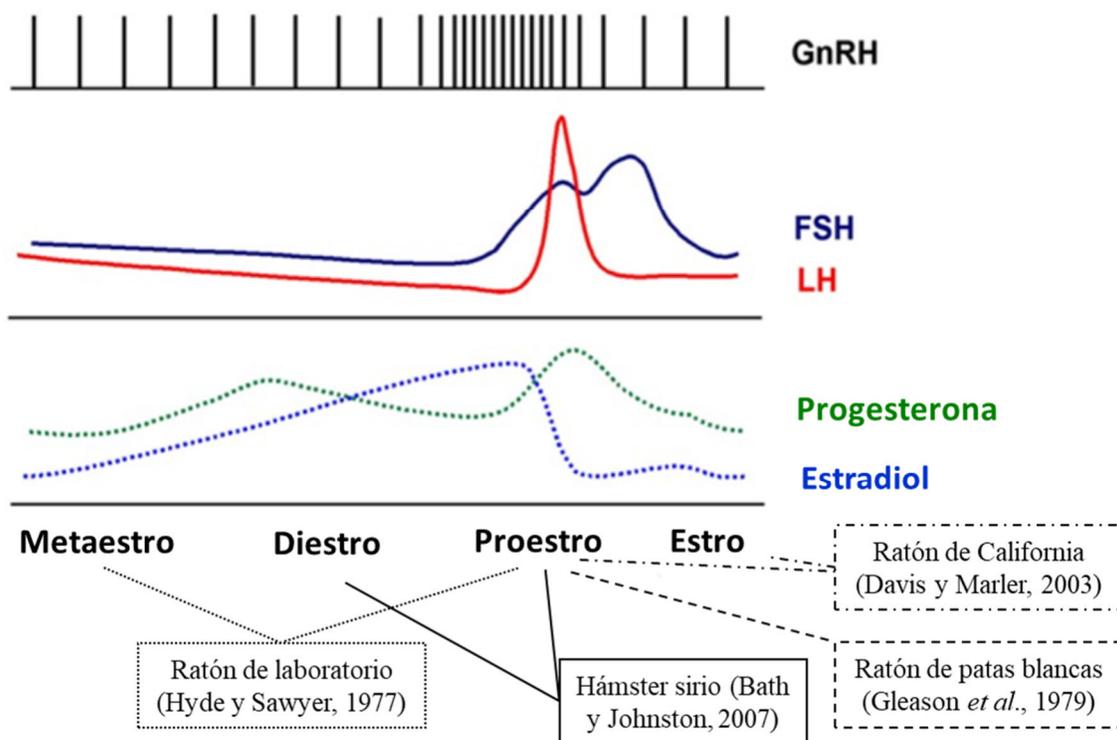


Figura 3. Ciclo estral de los roedores; la ovulación ocurre cada 4-5 días (ratón de laboratorio). El metaestro y diestro se caracterizan por un leve incremento del E₂. En la tarde-noche del proestro se elevan las concentraciones de E₂, induciendo un pulso de liberación de GnRH desde el hipotálamo, lo cual a su vez ocasiona una elevación de la LH y de la FSH, al inicio del periodo de actividad del roedor. La ovulación ocurre entre 12 y 14 horas después del pico de LH. Los cuadros marcan las etapas del ciclo estral, en las que las hembras se tornan más agresivas con otras hembras. Adaptado de "Central Circadian Control of Female Reproductive Function", Miller B. H. y Takahashi J. S. 2014.

Lo antes mencionado muestra que existen fuertes contradicciones en la regulación endócrina de la agresión territorial en las hembras de los vertebrados. Además, los estudios realizados en esta área del conocimiento son escasos, especialmente en los mamíferos. En este contexto se plantea la importancia de realizar más investigaciones de la regulación hormonal de esta conducta para contribuir a resolver la controversia de si las hormonas producidas en el ovario participan o no en la regulación de la agresión territorial. Por otra parte, los estudios neuroendócrinos realizados sobre la agresión territorial en los mamíferos se han limitado a la rata y ratón de laboratorio, especies polígamas, por lo cual en este estudio se utilizará como modelo a la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*), especie monógama.

Desde esta perspectiva, el explorar el despliegue y regulación hormonal de la conducta agresiva sería de gran interés, ya que el apareamiento aumenta la territorialidad en especies monógamas como la actual especie en estudio (Ross, 1995).

Cabe mencionar, que en este estudio no se analizó la función de la T en la agresión territorial, por los argumentos previamente expuestos que tratan sobre la independencia entre la conducta agresiva y esta hormona, así como sus efectos negativos en la reproducción.

Modelo de estudio.

El hámster enano (*Phodopus campbelli*) es nativo de las estepas semidesérticas de Asia Central, es de hábitos nocturnos y crepusculares. Tanto el macho, como la hembra marcan su territorio, utilizando secreciones de la glándula hardesiana. El ciclo estral tiene una duración de 4 días y puede ser inducido por la presencia del macho; tiene un período de gestación entre 17.5 a 18.5 días y el número de crías por camada es de 1 a 9 crías. El hámster enano es un roedor con monogamia obligada, por lo cual el éxito reproductivo de esta especie depende de la presencia constante del macho, ya que ante su ausencia, la hembra puede incluso abortar. Ambos padres participan en la construcción del nido y cuidado de las crías (Erb *et al.*, 1993; Ross, 1995).

En un estudio previo con este roedor, se analizaron las interacciones agresivas en condiciones de semi-encierro, manteniendo machos con machos y hembras con hembras en dos encierros (un par por encierro) comunicados mediante una puerta de guillotina, que solo se habría de

manera remota para permitir la interacción. Se observó que los machos fueron significativamente más agresivos que las hembras, contra conespecíficos del mismo sexo, presentando una mayor frecuencia de ataques, persecuciones, mordidas y boxeo (Wynne-Edwards y Lisk, 1984). Sin embargo, se desconoce si la hembra del hámster enano presenta agresión territorial, (Davis y Marler, 2003), así como la función que desempeñan las hormonas esteroides producidas por el ovario en la regulación de esta conducta.

Hipótesis.

En la mayoría de las especies de roedores monógamos, las hembras son territoriales, por lo cual se espera que la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*) exhiba agresión territorial.

En varias especies de vertebrados, el despliegue de la agresión territorial en las hembras se ha asociado positivamente con las concentraciones periféricas de E_2 , entonces se espera que esta hormona desempeñe un papel positivo en la regulación de la agresión territorial en la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*).

La P_4 se ha relacionado negativamente con el despliegue de la agresión territorial en las hembras de las especies de roedores *Cavia porcellus*, ratón de California y rata. Por lo tanto, se espera que esta hormona participe negativamente en la regulación de esta conducta en la hembra del hámster enano (*Phodopus campbelli*).

Objetivo general

- Determinar si la hembra del hámster enano *Phodopus campbelli* presenta agresión territorial, y si las principales hormonas ováricas (E_2 y P_4) participan en la regulación de esta conducta.

Objetivos particulares

- Determinar si la hembra del hámster enano presenta agresión territorial.
- Determinar la participación de E_2 y P_4 en la regulación de la agresión territorial.

Material y métodos.

Animales

Este estudio se realizó con hembras del hámster enano, sin experiencia sexual, con una edad de 48 a 70 días, y con machos vírgenes de edad semejante o mayor. Estos animales se obtuvieron de una colonia establecida en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Se mantuvieron bajo fotoperiodo invertido (12:12), con luz-oscuridad y humedad de laboratorio. Se les proporcionó como alimento nutricubos Lab diet y agua corriente *ad libitum*. Después del destete permanecieron de dos a tres hembras hermanas por jaula de material acrílico (32 x 23 x 15 cm), con cama de aserrín. Este estudio se dividió en dos partes, en la primera se determinó si la hembra del hámster enano presentaba agresión territorial, y en el segundo experimento, se determinó si el E₂ y la P₄ participan en la regulación de la agresión territorial de la hembra del hámster enano.

Primer experimento

Para determinar la presencia de agresión territorial, se formaron 28 parejas (macho y hembra, sin parentesco), ya que se sabe que el apareamiento promueve esta conducta (Kapusta, 1998). Los machos tuvieron un peso mayor al de las hembras para evitar que fueran agredidos, debido a que las hembras de esta especie son altamente agresivas con los machos (observación personal). Las parejas fueron alojadas en jaulas de acrílico (63x40x20 cm) con cama de aserrín. Quince días antes del apareamiento, a las hembras se les realizó la salpingoclasia para evitar la preñez, debido a que el objetivo del estudio fue analizar la agresión territorial y no la materna. Basado en criterios de observación derivados de la experiencia en el manejo de la especie, se conoce que la pareja se ha establecido cuando se presenta en conjunto cohabitación y acurrucamiento sin agresión por parte de la hembra duermen acurrucados y la hembra no agrede más al macho. A los 15 días siguientes al apareamiento, ya que a pareja se ha establecido, 16 hembras de las 28 parejas fueron sometidas a pruebas de residente-intruso (ver el apartado correspondiente). Como intrusas se utilizó un número igual hembras, sin experiencia sexual. El grupo control estuvo integrado

por 12 hembras de las parejas, las cuales no fueron sometidas a la prueba de residente-intruso. Las pruebas en las hembras se realizaron sin conocimiento previo de la etapa del ciclo estral en que se encontraban, ya que en esta especie no es posible determinar dichas fases mediante la revisión de frotis vaginal (Wynne-Edwards y Lisk, 1987). Después de realizar las pruebas de agresión, se tomaron muestras de sangre para cuantificar la concentración de E₂ y P₄.

Segundo experimento

En el segundo experimento se usaron otros dos conjuntos de hembras de hámster, uno para ovariectomía (n = 10) y otro para ovariectomía simulada (n = 10). Dichas hembras fueron previamente apareadas con machos vasectomizados, para evitar la preñez. Para ello, primero permanecieron con el macho durante 30 días para reafirmar la relación de pareja y evitar que las hembras los atacaran después de la ovariectomía. Luego de la ovariectomía las hembras permanecieron en recuperación 24 horas, para luego ser regresadas a su jaula de cohabitación con el macho. A los 15 días siguientes a la ovariectomía se realizaron las pruebas de residente- intruso.

Después de establecer el efecto de la ovariectomía se realizaron los experimentos de reemplazamiento hormonal. Se utilizaron cuatro grupos:

- Grupo 1: ovariectomía + E₂ (n = 10)
- Grupo 2: ovariectomía + P₄ (n = 10)
- Grupo 3: OVX + vehículo (n= 10)
- Grupo 4: Control OVX simulada (n=10)

Durante las pruebas experimentales de residente-intruso no se observó efecto (las medias de los tratamientos carecían de diferencias significativas) de E₂ ni de P₄ sobre el despliegue de la agresión, por lo que no se realizó una prueba con la sustitución de dichas hormonas en combinación. Siete días después de las cirugías se realizó la administración de hormonas, ésta se hizo por inyección subdérmica en el dorso, la hormona esteroide se disolvió en aceite de sésamo (vehículo) (Sigma-Aldrich, Los Ángeles CA). La dosis se estandarizó con base en los datos obtenidos para cada hormona, usando inicialmente concentraciones de 10 y 100

$\mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$, usándose finamente los resultados de la primera ya que se asemejaba a la concentración de esteroides en plasma de organismos a los que no se les realizó la ovariectomía o a aquellas en las que se simuló ($U = 58$; $p = 0.87$). A las 24 horas después de la administración de la hormona se realizaron las pruebas de residente-intruso.

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con la guía ética de la Norma Oficial Mexicana, que regula la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2001) y por la American Society of Mammalogists (Sikes *et al.*, 2011).

Cirugías: salpingoclasias, ovariectomías y vasectomías

Las hembras fueron anestesiadas con xilacina, 10 mg/kg y ketamina, 90 mg/kg, enseguida la región abdominal fue desinfectada con cloruro de benzalconio 1:100. Para realizar la salpingoclasia se hizo una incisión en la región ventral media hasta encontrar la cavidad peritoneal, se localizaron los ovarios y oviductos (Fig. 4a), los cuales fueron ligados y posteriormente seccionados en el segmento medio. Los oviductos y los tejidos internos fueron suturados con hilo catgut (0000-00000) y la piel con hilo de seda (0000-00000). La ovariectomía se realizó siguiendo el método descrito anteriormente, pero aquí antes de disecar los ovarios fueron ligados los oviductos y los vasos sanguíneos en la región proximal al útero (Fig. 4b). Como analgésico se les administró ketorolaco (0.005 ml). Después de 24 horas de recuperación fueron regresadas con su pareja. Al igual que las hembras, los machos fueron anestesiados utilizando las mismas dosis de anestésicos. El área escrotal fue desinfectada utilizando cloruro de benzalconio 1:100. Se realizó una pequeña incisión en la parte anterior de la bolsa escrotal, se localizó el conducto deferente, el cual fue ligado con hilo catgut (0000) y seccionado en la región proximal al epidídimo (Fig. 4c). El tejido escrotal fue suturado con hilo de seda (0000-00000).

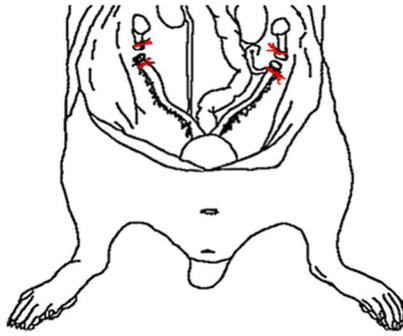


Figura 4a. Salpingoclasia

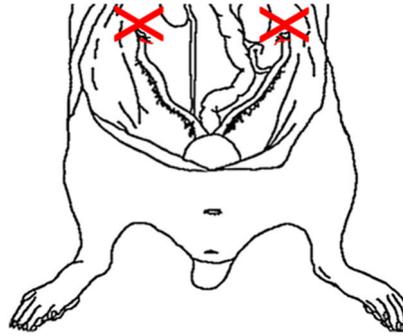


Fig. 4b. Ovariectomía

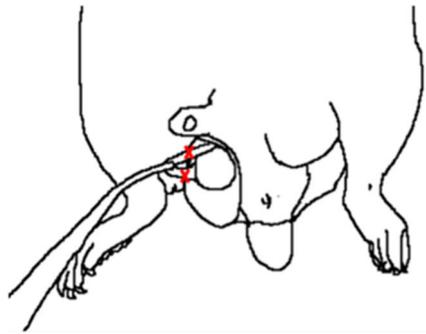


Figura 4c. Vasectomía

Pruebas de residente-intruso

Las pruebas de agresión de residente-intruso se realizaron en la jaula en la cual cohabitaron macho-hembra a los 15 días de apareamiento. Para realizar las pruebas de agresión el macho fue retirado de la jaula y después de 30 minutos de adecuación fue introducida una hembra intrusa sin parentesco ni relación y con un peso menor o similar al de la hembra residente, de acuerdo con los protocolos seguidos en las pruebas de residente intruso para rata y ratón, sin usar a la misma intrusa más de dos veces para evitar que esta ganara experiencia en los enfrentamientos (Koolhaas *et al.*, 2013). Se registró la latencia de ataque (tiempo en segundos que transcurre desde la introducción de la intrusa hasta que es atacada por la residente). Asimismo, se cuantificó el tiempo invertido de las siguientes conductas: lucha con entrelazamiento, boxeo, mordidas y supinación como el tiempo total de ataque (tiempo que resulta de la suma de intervalos de ataque). El periodo de observación fue 5 minutos, sin contemplar una ganadora, interrumpiéndose inmediatamente cuando la agresión fue intensa e implicaba la presencia de sangre, para evitar daños a los animales. La latencia de ataque se definió como el tiempo transcurrido en segundos desde que se introdujo la hembra intrusa a

la jaula de la hembra residente, notando esta última su presencia, hasta el momento en que se produjo el primer ataque, mientras que el tiempo total de ataque se determinó como la suma de todos los tiempos que la residente ocupó en el ataque. Se registraron el número de mordidas, boxeo, empujones, luchas, y de espaldas planas. Las pruebas de agresión se realizaron entre las 14:00 y 16:00 h, grabando cada encuentro con una cámara digital con infrarrojo (IR Bullet camera, 2.1 megapíxeles) (Koolhaas *et al.*, 2013).

Extracción de muestra sanguínea

Treinta minutos después de las pruebas de agresión, cada una de las hembras fue anestesiada, siguiendo el procedimiento descrito para cirugías, pero solo con la mitad de la dosis y se les extrajeron 400 μ l de sangre por vía retroorbital con capilares heparinizados. Se esperó este tiempo después del enfrenamiento porque se reporta que es cuando el E₂ alcanza su máxima concentración en sangre en las hembras que han tenido algún enfrentamiento; por razones como la aromatización de otros esteroides precursores (Davis y Marler, 2003; Rubenstein y Wikelski, 2005). Estas muestras fueron centrifugadas para la obtención del plasma (2500 rpm/15 min, Biofuge haemo Heraeus, Kendro), el cual fue congelado a -40° C, hasta el momento de la cuantificación de E₂ y P₄ por ELISA.

Ambas hormonas se midieron con el kit comercial de DRG (DRG instruments GmbH, Germany, International, Inc.). Para el E₂, la sensibilidad analítica observada fue de 10.6 pg/ml. El coeficiente de variación intraensayos fue de 6.6%, y el de variación interanálisis de 6.7%. El ensayo fue validado, demostrando correlación entre las diluciones del plasma de la hembra del hámster enano y la curva patrón; con una tasa de recuperación de 95% y una $r = 0.89$. Para la P₄, la sensibilidad analítica fue de 0.04 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayos fue de 5.2%, y el de variación interanálisis de 7.3%. El ensayo fue validado, demostrando correlación entre las diluciones del plasma de la hembra del hámster enano y la curva patrón; con una tasa de recuperación de 92% y una $r = 0.82$.

Análisis estadístico

Experimento 1: La latencia de ataque y el tiempo total de ataque, ambos medidos en segundos, se correlacionaron con las concentraciones tanto de E₂ como de P₄ mediante la prueba de Spearman. Las concentraciones de E₂ y P₄ en plasma, entre las hembras que fueron sometidas a pruebas de residente-intruso y las hembras no enfrentadas (grupo control) fueron contrastadas aplicando la prueba U de Mann-Whitney. Los datos de las hembras residentes que no desplegaron agresión no fueron incluidos en estos análisis.

Experimento 2: Los datos sobre latencia de ataque y tiempo total de ataque se correlacionaron con las concentraciones de E₂ y P₄ usando el análisis de correlación de Spearman. Los datos sobre latencia de ataque y tiempo total de ataque de las hembras ovariectomizadas con reemplazamiento de E₂, ovariectomizadas con reemplazamiento de P₄ y con procedimiento simulado se evaluaron usando la prueba de Kruskal-Wallis. Las conductas registradas durante las pruebas de residente-intruso se agruparon en ofensivas (mordidas, boxeo, empujones, espaldas planas y persecución) y defensivas (colocarse boca arriba y escape). Las frecuencias de conductas ofensivas de las hembras con ovariectomía + E₂, con ovariectomía + P₄, ovariectomizadas y con procedimiento simulado fueron analizadas con la prueba de Kruskal-Wallis. Esta prueba también se empleó para analizar las frecuencias de las conductas defensivas entre las hembras de hámster ovariectomizadas + E₂, ovariectomizadas + P₄, ovariectomizadas y con procedimiento simulado. Esta misma prueba se usó para comparar las concentraciones de E₂ y P₄ entre hembras ovariectomizadas, con procedimiento simulado, ovariectomizadas + E₂ y ovariectomizadas + P₄. La razón de que se usaran pruebas no paramétricas se debió a la ausencia de normalidad de los datos, lo cual se determinó mediante la prueba de Anderson-Darling ($P > 0.05$). Las comparaciones entre pares de pruebas se realizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney (significación asintótica $P > 0.05$), aplicando la corrección de Bonferroni.

Además, se obtuvieron los porcentajes de las hembras del hámster enano que mostraron agresión y de las que no fueron agresivas durante las pruebas de residente-intruso para ambos experimentos 1 y 2. Para la realización de las pruebas y la elaboración de las gráficas, se utilizó el programa de SPSS versión 21.0 (IBM SPSS, Armonk, NY) usando una significancia de $p=0.05$.

Resultados.

Primer experimento

Los resultados mostraron que el 87.5% de las hembras ($n = 14$) que fueron sometidas a pruebas de residente-intruso presentaron agresión territorial, mientras que el 12.5% ($n = 2$) no fueron agresivas. La latencia de ataque en las hembras que exhibieron agresión no se correlacionó significativamente con las concentraciones de E_2 ($r = -0.07$, $P = 0.80$), ni las de P_4 ($r = 0.02$, $P = 0.09$) (Tabla 1).

Tabla 1. Correlaciones (coeficiente de correlación de Spearman) entre la latencia (seg), el tiempo total de ataque (seg), estradiol y progesterona. No se observaron correlaciones.

		Latencia	Tiempo total	E2	P4
Latencia	Coeficiente de correlación	1.00	0.25	-0.07	0.02
	Sig. (bilateral)	.	0.35	0.80	0.93
	N	16	16	16	16
Tiempo total	Coeficiente de correlación	0.25	1.00	-0.18	0.13
	Sig. (bilateral)	0.35	.	0.51	0.63
	N	16	16	16	16
E2	Coeficiente de correlación	-0.07	-0.18	1.00	0.38
	Sig. (bilateral)	0.80	0.51	.	0.15
	N	16.0	16.0	16.0	16.0
P4	Coeficiente de correlación	0.02	0.13	0.38	1.00
	Sig. (bilateral)	0.93	0.63	0.15	.
	N	16	16	16	16

El tiempo total de ataque en las hembras que exhibieron agresión tampoco se correlacionó con las concentraciones de E_2 ($r = 0.2$, $P = 0.51$), ni de P_4 ($r = 0.13$, $P = 0.06$) (Tabla 1).

En el cuadro 1 se muestran las principales conductas que integran la agresión territorial en la hembra del hámster enano. La exploración fue usualmente la primera forma de interacción con la intrusa durante los encuentros agresivos. La residente olfateaba a la intrusa inmediatamente, atacando a continuación con mordidas, boxeo, lucha y supinación.

Cuadro 1. Conductas que integran la agresión territorial en la hembra del hámster enano

Conducta	Descripción	Gráfico
Persecución	Por lo general se inicia con motivo de un ataque por mordida por parte de la residente, que continúa persiguiendo a la intrusa para seguir atacando. A diferencia del acoso por parte de la residente para realizar el olfateo, las acciones se desarrollan de manera vertiginosa	-
Mordidas	Dirigidas hacia los flancos, pero en especial al hocico. Al supinar a la intrusa, muerden las patas y el vientre	
Lucha	Intento de la residente por supinar y dominar a la intrusa, puede llevar al entrelazamiento continuándose con mordidas	
Entrelazamiento	Se presenta durante la lucha, una hembra toma un miembro de la otra entre los dientes y continúan la lucha sin liberarlo	-
Boxeo	Rasguños y empujones con las patas delanteras, sosteniéndose en vertical sobre sus patas traseras sentadas sobre el sustrato	
Supinación	La residente pone de espaldas planas a la intrusa, la domina y puede proceder con olfateo anogenital o continuar atacando con mordidas	

Cuando la residente supina mediante lucha a la intrusa, ésta última adopta una conducta sumisa, permaneciendo de espalda, mostrando el vientre y permitiendo el olfateo anogenital. La lucha puede continuarse con entrelazamiento. Aquí, la intrusa puede permitir la huida de la residente o esta última forzar su propia huida, alejándose de la residente e incluso sosteniéndose de la tapa de la jaula con el fin de escapar antes de un nuevo ataque por parte de la residente. Estas conductas se repitieron a través de todo el periodo de

observación, aunque la lucha y entrelazamiento solían extenderse. También, la agresividad despegada fue la razón por la que se decidió acortar el período de prueba de residente intruso a cinco minutos, evitando daño excesivo a los animales.

Las concentraciones de E₂ en las hembras de hámster enano enfrentadas en las pruebas de residente intruso fueron significativamente más altas (mediana = 469.89 pg/ml, rango de 61.03 a 1773.37 pg/ml) que las de las hembras sin enfrentamiento (mediana = 87.86 pg/ml, rango de 54.88 a 375.75 pg/ml, W = 284, P = 0.03; Fig. 5).

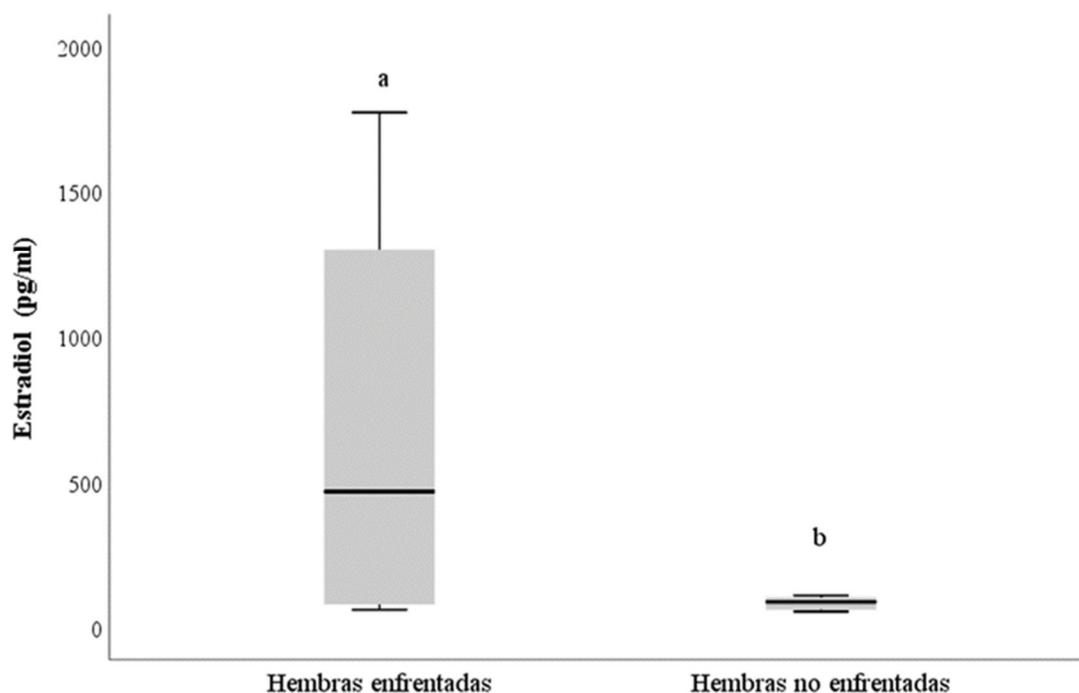


Figura 5. Las concentraciones de E₂ fueron significativamente más altas en las hembras del hámster enano enfrentadas en contraste con las no enfrentadas. Los datos representan la mediana, el error estándar y el rango intercuartil de la distribución. a y b muestran dichas diferencias significativas (P = 0.03).

Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de P₄ entre hembra confrontadas (mediana = 2.57 ng/ml, rango de 0.43 a 9.49 ng/ml) y hembras no confrontadas (mediana = 2.42 ng/ml, rango de 0.03 a 9.89 ng/ml; W = 245, P = 0.70).

Segundo experimento

En la Tabla 2 se muestra que el 100% de las hembras ovariectomizadas mostraron agresión en las pruebas de residente-intruso. Lo mismo se observó en las hembras con ovariectomía simulada y ovariectomizadas con reemplazamiento con E₂ o P₄. No se encontraron diferencias significativas en la latencia de ataque ($H=0.33$, $gl = 3$, $P = 0.85$) y el tiempo total de ataque ($H = 2.82$, $gl = 3$, $P = 0.24$) entre las hembras con ovariectomía, ovariectomizadas + E₂, ovariectomizadas + P₄ y con ovariectomía simulada (Fig. 6).

Tabla 2. Porcentaje de hembras que desplegaron agresión en las pruebas de residente-intruso en el segundo experimento.

Tratamiento	n	Porcentaje de hembras agresivas
Ovariectomía (ov)	10	100%
Ov simulada	10	100%
Ov + E ₂	10	100%
Ov + P ₄	10	100%
Ov + vehículo	10	100%

No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias de las conductas ofensivas ($H = 6.31$, $gl = 3$, $P=0.1$) ni entre las frecuencias de las conductas defensivas ($H = 3.10$, $gl = 3$, $P = 0.38$) entre las hembras de hámster ovariectomizadas, con procedimiento simulado, ovariectomizadas + E₂ ni ovariectomizadas +P₄.

Las concentraciones de E₂ entre las hembras con ovariectomía (mediana = 75.51 pg/ml, rango de 12.3 a 120.85 pg/ml), con ovariectomía + E₂ (mediana = 770.01, rango de 143.1 a 2066.52 pg/ml) y las hembras con ovariectomía simulada (mediana =95.29 pg/ml, rango de 17.44 a 385.77 pg/ml) mostraron diferencias significativas ($H = 14.40$, $gl = 2$, $P = 0$, Fig. 7).

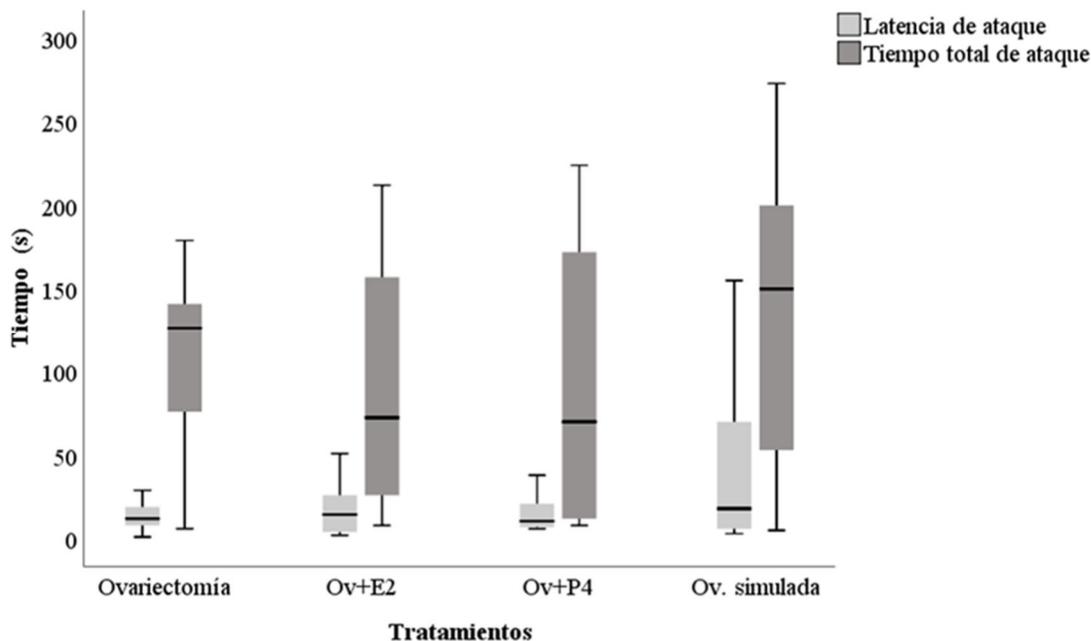


Figura 6. Comparaciones entre la latencia de ataque y tiempo total de ataque de las hembras sometidas a diferentes tratamientos. Los datos representan la mediana, el error estándar y el rango intercuartil de la distribución total de ataque. No se encontraron diferencias significativas en la latencia de ataque ($P = 0.85$) y el tiempo total de ataque ($P = 0.24$) entre las hembras ovariectomizadas, ovariectomía + E_2 , ovariectomía + P_4 y con ovariectomía simulada.

La comparación por pares indicó que los niveles de esta hormona en plasma fueron significativamente mayores en las hembras de hámster enano sujetas a ovariectomía con remplazo de E_2 comparadas con las ovariectomizadas y con las que tuvieron procedimiento simulado ($U = 13$, $P = 0.004$). En cambio, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de E_2 entre hembras con ovariectomía y hembras con ovariectomía simulada ($U = 33$; $P = 0.22$, Bonferroni $P = 0.016$, Fig. 7).

Por otro lado, aunque las concentraciones de P_4 en hembras de hámster enano sujetas a ovariectomía + remplazo con P_4 (mediana = 2.92 ng/ml, rango de 1.73 a 5.75 ng/ml) fueron comparativamente más altas que aquellas hembras solo con ovariectomía (mediana de 0.44 ng/ml, rango de 0 a 5.7 ng/ml) y con el procedimiento simulado (mediana 1.63 ng/ml, rango de 0.13 a 7.91 ng/ml), las diferencias no fueron significativas ($H = 2.97$, $gl = 2$, $P = 0.26$; Fig 8).

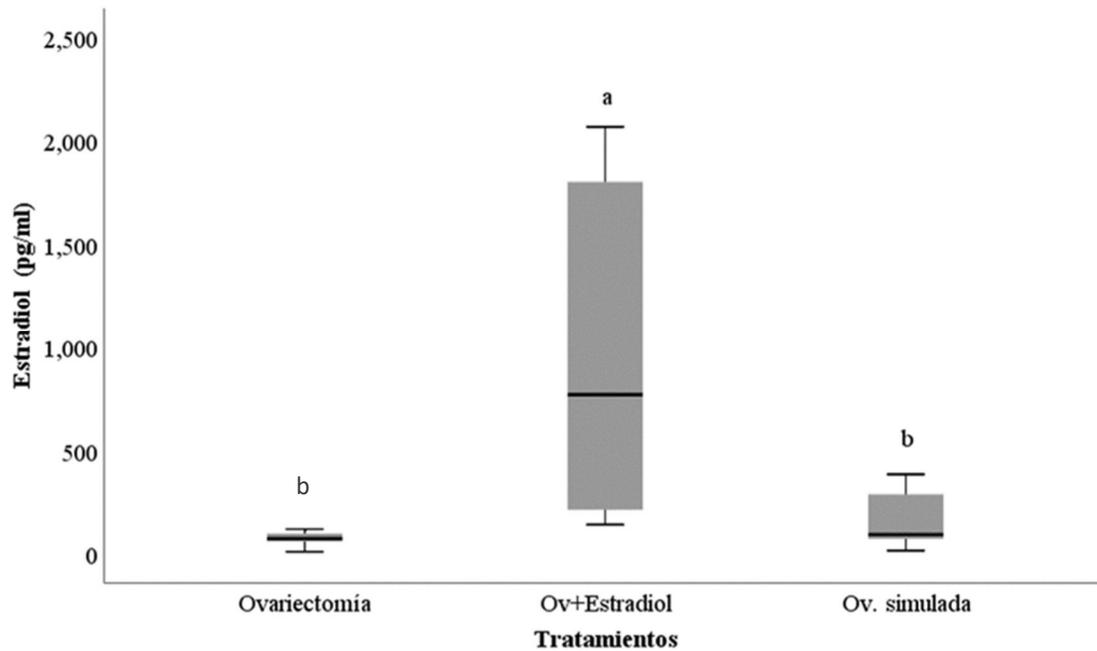


Figura 7. Las concentraciones de E₂ entre las hembras con ovariectomía + E₂ mostraron diferencias significativas al ser comparadas con las hembras sometidas a ovariectomía o con el procedimiento simulado (P = 0.004). En cambio, no se hubo diferencias entre las hembras ovariectomizadas y aquellas con procedimiento simulado (P = 0.016). Los datos representan medianas, el error estándar y el rango intercuartil. Las letras a y b indican diferencias significativas.

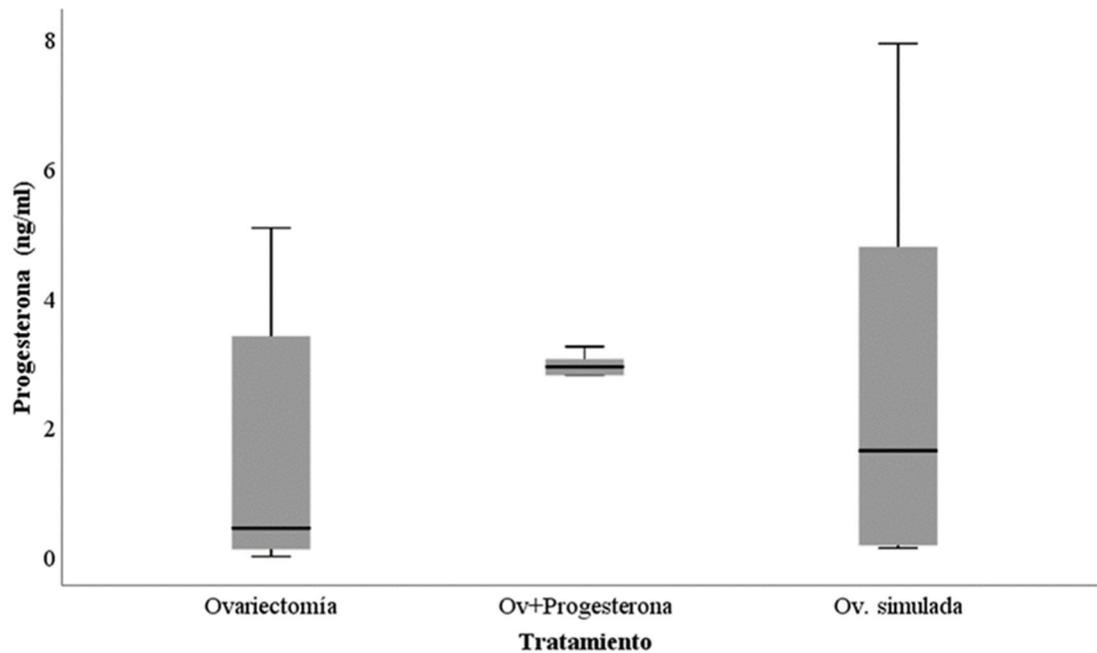


Figura 8. Las concentraciones de P₄ entre las hembras con ovariectomía, con ovariectomía + P₄ y sometidas a ovariectomía simulada no mostraron diferencias significativas. Los datos representan medianas, el error estándar y el rango intercuartil (P = 0.26).

Discusión

Los datos de esta tesis mostraron que las conductas ofensivas y defensivas de las hembras de hámster enano son muy similares a las que se han reportado para otros roedores. Se observó que las conductas desplegadas durante las pruebas de residente-intruso son las mismas reportadas en los machos, tanto de su especie como de otras utilizadas en laboratorio (ratas, ratones, hámster sirio, gerbo de Mongolia, y hámster siberiano). En los machos, se observa que la exploración es también la primera pauta de conducta, además de que la persecución, el boxeo, la lucha e incluso el entrelazamiento presentan el mismo desarrollo en ambos sexos (Anisko *et al.*, 1973; DeBold y Miczek, 1981; Wynne-Edwards y Lisk, 1984; Ross, 1995; Bath y Johnston, 2007; Koolhaas *et al.*, 2013).

En el primer experimento, el 87.5% de las hembras del hámster enano mostraron agresión hacia otra hembra de la especie en pruebas de residente-intruso. Este resultado es corroborado con lo obtenido en el segundo experimento, en el cual el 100 % de las hembras de este roedor fueron agresivas. Esto muestra, como se planteó en la hipótesis, que la hembra del hámster enano es territorial. Estos resultados difieren de aquellos obtenidos por Wynne-Edwards y Lisk (1987) respecto a que las hembras son menos territoriales que los machos, tal diferencia pudo atribuirse al diseño experimental; ellos usaron también hembras vírgenes, pero las colocaban en encierros grandes comunicados entre ellos mediante puertas de guillotina. Además, a diferencia de este estudio, las hembras de hámster se aclimataban al encierro por 24 horas antes de la primera prueba. En este contexto social, la probabilidad de una pelea por el territorio es más baja, ya que los estudios de agresión territorial en roedores generalmente emplean periodos de apareamiento de dos o tres semanas (Koolhaas *et al.*, 2013).

Esta defensa del territorio no sería observada en condiciones de semicautiverio (mantenidos en espacios exteriores o amplios limitados, en contraposición del mantenimiento en jaulas), como los señalan los trabajos de Erb *et al.*, 1993 y Ross, 1995; ya que al disponer de más espacio las hembras evitarían el entrar en el territorio de otras hembras para evitar la posibilidad de una confrontación y de un daño físico que disminuyera su adecuación (*fitness*). Los resultados obtenidos en esta tesis son concordantes con lo observado, ya que, usando un ambiente de arena cerrada dominada por la residente en el paradigma de residente intruso,

las intrusas la evitan, intentan salir del encierro y por regla general la primera en atacar es la hembra residente (solo en un caso se observó que la intrusa fuera la primera en atacar a la residente).

Las hembras del segundo experimento, todas las cuales desplegaron agresión, también tuvieron un periodo de apareamiento más prolongado en comparación con las del primer experimento. Esto sugiere que la duración del apareamiento es un factor que influye en la agresión territorial, entre más tiempo permanezcan en pareja, la territorialidad es más marcada. En otros roedores, como el ratón de California, especie monógama, el 79 % de las hembras presentaron agresión territorial (Davis y Marler, 2003). En especies polígamas, como la rata de laboratorio, la agresión entre hembras se encuentra entre el 75 y 100% (DeBold y Miczek, 1984), que es el rango en el que se encuentra el porcentaje de hembras que desplegaron agresión territorial del hámster enano. Otros factores que pueden influir en la agresión territorial son la variabilidad individual de la especie. Esta diferencia en la respuesta puede deberse también a factores sociales como, la historia de vida y la relación de dominancia dentro de la camada, en este caso, las hembras más agresivas son las que tienen mayor número de interacciones agresivas con sus hermanas, ganando más experiencia, lo cual les puede conferir mayor éxito en los enfrentamientos futuros (Ross, 1995; Neill, 2006). Asimismo, las relaciones de dominancia que se establecen entre las hembras que cohabitan en la misma jaula después del destete, ocasiona que una de las hembras se establezca como dominante, siendo esta la que defiende el territorio, mientras que las acompañantes adoptan conductas sumisas.

Los datos del experimento 1 mostraron que no existe correlación entre la latencia de ataque y las concentraciones de E_2 y P_4 en plasma, tampoco el tiempo total de ataque se correlacionó con las concentraciones de estas hormonas. Estos resultados sugieren que el E_2 y la P_4 no participan en la agresión territorial en la hembra del hámster enano. Esto además es acorde con lo encontrado en el segundo experimento, debido al hecho de que, aunque la ovariectomía ocasionó una disminución significativa en las concentraciones de E_2 y P_4 , la agresión no fue eliminada, pues el 100% de las hembras ovariectomizadas desplegaron agresión territorial; al igual que ocurrió con las hembras en las que se simuló el procedimiento. Tampoco el reemplazamiento con E_2 o P_4 tuvo efecto en la agresión, debido

a que todas las hembras del hámster enano que fueron sometidas a estos tratamientos fueron tan agresivas, como las del grupo control. Estos resultados muestran que la agresión territorial en la hembra del hámster enano es independiente de las hormonas producidas por el ovario, específicamente E₂ y P₄. Barr *et al.*, 1976 y DeBold y Miczek, 1981 reportaron lo mismo para la rata de laboratorio, en la que la ovariectomía tampoco elimina la agresión incluso después de seis semanas de realizada la cirugía. En el ratón ciervo *Peromyscus maniculatus* (Whitsett *et al.*, 1979), el ataque de las hembras hacia juveniles no se ve afectado por la ovariectomía. De la misma manera, en hembras de hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) la gonadectomía no reduce los niveles de agresión ni cuando recibe inyecciones de T o E₂ (Vandenbergh, 1971). Como ya se hubo mencionado, en hembras de gerbo de Mongolia y del ratón de patas blancas, la ovariectomía tampoco no tiene efecto sobre la agresión (Anisko *et al.*, 1973; Gleason *et al.*, 1979).

Tampoco se encontraron diferencias significativas en la latencia, el tiempo total de ataque ni en las frecuencias de conductas ofensivas ni defensivas entre hembras ovariectomizadas y aquellas en las que simuló la ovariectomía; lo cual evidencia que, en la hembra de esta especie, la ovariectomía no incrementa la agresión, como ocurre en las especies antes mencionadas.

Un resultado interesante en este estudio fue encontrar que las hembras del hámster enano que fueron enfrentadas en las pruebas de residente-intruso tuvieron concentraciones de E₂ significativamente más altas que las hembras no enfrentadas. Esto indica que el enfrentamiento ocasionó un incremento en la concentración de esta hormona. La elevación del E₂ en las hembras del hámster enano después de un enfrentamiento no es un evento único; en la hembra de la iguana marina se registra una elevación de E₂ al defender un territorio para el establecimiento del nido (Rubenstein y Wikelski, 2005), y en la hembra del ratón de California después de un enfrentamiento disminuyen los niveles de otra hormona ovárica, la P₄ (Davis y Marler, 2003).

En los machos de rata y ratón de laboratorio, así como en algunas aves, se registra un incremento en la concentración de T después de un encuentro agresivo provocado por una intrusión (Gleason *et al.*, 2009; Duque-Wilkens *et al.*, 2019), a este evento se le conoce como la hipótesis del reto “Challenge hypothesis” (Wingfield *et al.*, 1990). Sin embargo, en el

actual experimento lo que se observó fue un aumento de E₂, tal evento podría estimular la agresión de la hembra en encuentros futuros de manera similar a lo que ocurre en el efecto ganador en los machos, en el cual un incremento de la T provoca una disminución de la latencia de ataque en encuentros futuros. Esto solo se plantea como una posibilidad, ya que el resto del estudio demostró una falta de relación entre el E₂ gonadal y la agresión, al contrario de lo que ocurre en la generalidad de los machos en los que la relación agresión-T está ampliamente demostrada. Otra explicación de la elevación del E₂ podría estar relacionada con aspectos reproductivos, específicamente con la entrada al estro de manera inmediata (y la aceptación de la copular con los machos) por la elevación de la hormona, etapa en la que las hembras de roedores son por lo general más agresivas hacia sus conespecíficos (hámster sirio con Bath y Johnston, 2007; ratón de patas blancas con Gleason *et al.*, 1979; ratón de California con Davis y Marler, 2003 y rata con Hyde y Sawyer, 1977), etapa en la que además la cópula promovería la monogamia, el establecimiento de una pareja monógama y la defensa conjunta del territorio (Davis y Marler, 2003; Rubenstein y Wikelski, 2005; Pärn *et al.*, 2008). Estas observaciones sugieren que la defensa del territorio está ligada a la facilitación de eventos reproductivos, pero no está en función de la concentración en plasma de E₂ y P₄.

A diferencia del E₂, las concentraciones de P₄ en hembras confrontadas y no confrontadas no mostraron diferencias significativas. Tal resultado es contrario al reportado para la hembra del ratón de California, en la cual la concentración P₄ disminuye después de una intrusión, además de que dicho cambio en la relación P₄/T induce un incremento en la agresión en enfrentamientos futuros, que fue llamado reto de la progesterona, “*progesterone challenge*” (Davis y Marler, 2003). Los resultados en el actual estudio mostraron variaciones considerables en las concentraciones de P₄, las cuales pudieron deberse a la condición endocrina de la hembra, como por ejemplo aquellas derivadas del ciclo estral y a la pseudopreñez por la convivencia continúa con el macho. Esta observación se deriva del hecho de que dos hembras mostraron una concentración de aproximadamente 10 ng/ml, concentración que ha sido reportada para hembras de hámster enano en estado de pseudopreñez (Heather y Wynne-Edwards, 1994).

El E₂ en las hembras ovariectomizadas nunca presentó niveles cercanos a cero, como cabría esperar después de la ovariectomía. Además, aunque sus concentraciones fueron más bajas que aquellas de las hembras con ovariectomía simulada, estas diferencias no fueron significativas; sugiriendo la existencia de otras fuentes para el E₂ y P₄.

La agresión territorial en la hembra del hámster enano puede depender de otros mecanismos como, la síntesis de esteroides en el sistema nervioso central y/o cambios en la sensibilidad en las regiones neurales involucradas en la regulación de esta conducta. Por otra parte, la agresión territorial también puede depender de la síntesis de hormonas activas, a partir de precursores esteroides adrenales como la DHEA. En el hámster siberiano, especie estrechamente emparentada con el hámster enano, se ha observado que una elevación de la DHEA promueve la agresión en los días cortos de invierno, cuando ocurre una recesión gonadal y por tanto una disminución significativa de esteroides sexuales (Wingfield y Soma, 2002; Pärn *et al.*, 2008, Scotti *et al.*, 2008). La DHEA, como ya se mencionó, es una prohormona que en el tejido cerebral puede ser transformada en testosterona, la que a su vez puede ser aromatizada en E₂ (Wingfield y Soma, 2002; Scotti *et al.*, 2008). También es posible que aquellas regiones que regulan la agresión territorial aumenten su sensibilidad al E₂, incrementando su cantidad de receptores de estrógenos (Pelin *et al.*, 2017). Este mecanismo se ha observado en hembras de hámster siberiano (*Phodopus sungorus*), una especie emparentada con el hámster enano. Las hembras de este roedor exhiben agresión territorial en los días cortos de otoño e invierno, cuando las concentraciones de E₂ son basales, lo cual sugiere que no dependen de altas concentraciones de la hormona para desplegar esta conducta, debido a que las áreas cerebrales que regulan la agresión territorial, tales como el gris periacuaductal, la porción medial del núcleo del lecho de la estría terminal y la porción ventral del septum lateral, aumentan su sensibilidad a esta hormona al aumentar la cantidad de receptores ER α (Rendon, *et al.*, 2017).

Los resultados también mostraron que, aunque las concentraciones de P₄ en hembras sometidas a ovariectomía + remplazo con P₄ fueron, como se esperaba, más altas que las de las hembras sometidas a ovariectomía simulada, tal diferencia no fue significativa. Esto pudo deberse a las variaciones en las concentraciones observadas en las hembras con ovariectomía simulada, algunas de las cuales pudieron estar pseudopreñadas como se ha mencionado, o a

la inactivación de la P₄ por su conversión en 20 α -hidroxiprogesterona en el tejido adiposo del dorso de la hembra (sitio en el que se le administró la hormona) (Zhang *et al.*, 2009).

En las hembras con ovariectomía aún fue posible detectar bajas concentraciones de P₄, lo cual pudo deberse a la actividad de las glándulas adrenales las cuales también producen P₄ (Fajer *et al.*, 1971). La función de esta hormona en la regulación de la conducta agresiva es incierta, ya en otros estudios con hembras se ha relacionado tanto de manera positiva como negativa, dependiendo del contexto y de la especie (Elekonich y Wingfield, 2000; Davis y Marler, 2003).

La independencia de la agresión territorial de las hormonas esteroides ováricas, podría ser una estrategia adaptativa que permite a la hembra el despliegue de la agresión territorial en cualquier etapa de su ciclo reproductivo. Si la hembra dependiera del E₂ y la P₄ producidas en el ovario, la variación en la concentración de estas hormonas durante el ciclo reproductivo afectaría esta conducta, y entonces no tendría el estado fisiológico para la defensa continua del territorio, o al menos no con la misma intensidad y frecuencia, entonces podría ser desplazada por otras hembras.

Conclusiones

Los resultados indicaron que las hembras del hámster enano presentan agresión territorial, y que esta agresión es independiente de las hormonas esteroides producidas por el ovario, en este caso, E₂ y P₄. Por tanto, futuras investigaciones deben enfocarse en mecanismos alternos como la síntesis de esteroides a nivel cerebral *de novo*, o a partir de prohormonas como la DHEA, así como a cambios en la sensibilidad a las hormonas.

Referencias bibliográficas

- Albert, D. J. Jonik R. H., Walsh, M. L. 1992. Interaction of E₂, Testosterone, and Progesterone in the Modulation of Hormone Dependent Aggression in the Female Rat. *Physiology and Behavior*. 52, 773-779.
- Anisko, J. T., Christenson, T., Buehler, M. G. 1973. Effects of androgen on fighting behavior in male and female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Hormones and Behavior*. 4 (3), 199-208.
- Barr, G. A., Gibbons, J. L., Moyer K. E. 1976. Male-female differences and the influence of neonatal and adult testosterone on intraspecies aggression in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 90 (12), 1169-1183.
- Bath, K. G., Johnston, R. E. 2007. Dominant-Subordinate relationships in Hamsters: Sex Differences in Reactions to Familiar Opponents. *Hormones and Behavior*. 51 (2), 258–264.
- Becker, J. B., Arnold, A. P., Berkley, K. J., Blaustein, J.D., Eckel, L. A., Hampton, E., Herman, J. P., Marts, S., Sadee, W., Steiner, M., Taylor, J., Young, E. 2005. Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*. 146(4):1650–1673.
- Bebić, N., McElligott, A. G. 2006. Female aggression in red deer: ¿Does it indicate competition for mates? *Mammalian biology*. 71 (6), 347–355.
- Bester-Meredith, J., Marler C. A. 2003. The Association Between Male Offspring Aggression and Paternal and Maternal Behavior of *Peromyscus* Mice. *Ethology* 109, 797–808.
- Boonstra, R, Lane, J. E., Boutin, S., Bradley, A., Desantis, L., Newman, A. E. M., Soma, K. K. 2008. Plasma DHEA levels in wild, territorial red squirrels: Seasonal variation and effect of ACTH. *General and Comparative Endocrinology*. 158, 61–67.
- Bowler, C.; Cushing, B., Carter, C. 2002. Social factors regulate female-female aggression and affiliation in prairie voles. *Physiology & Behavior*. 76; 559– 566.

- Calhoun, J. B. 1949. A Method for Self-Control of Population Growth among Mammals Living in the Wild. *Science*. 2831: 333–335.
- Clutton-Brock, T. H., Hodge, S. J., Spong, G., Russell, A. F., Jordan, N. R., Bennett, N. C., Sharpe, L. L., Manser, M. B. 2006. Intrasexual competition and sexual selection in cooperative mammals. *Nature*. 444, 21-28.
- Clutton-Brock, T. H., Huchard, E. 2013. Social competition and selection in males and females. *Phil Trans R Soc B*. 368.
- Connolly, P. B., Resko, J. A. 1989. Progestins affect reproductive behavior and androgen receptor dynamics in male guinea pig brain. *Brain Res*. 503, 312–316.
- Crews, D., Godwin, J., Hartman, V., Grammer, M., Prediger, E. A., Sheppherd, R. 1996. Intrahypothalamic implantation of progesterone in castrated male whiptail lizards (*Cnemidophorus inornatus*) elicits courtship and copulatory behavior and affects androgen receptor- and progesterone receptor-mRNA expression in the brain. *J. Neurosci*. 16, 7347–7352.
- Davis, E. S., Marler, C. A. 2003. The progesterone challenge: steroid hormone changes following a simulated territorial intrusion in female *Peromyscus californicus*. *Hormones and behavior*. 44, 185-198.
- De Boer, S. F. 2018. Animal models of excessive aggression: implications for human aggression and violence. *Current Opinion in Psychology*. 19:81–87.
- Debold, J. F., Miczek, K. A. 1981. Sexual Dimorphism in the Hormonal Control of Aggressive Behavior of Rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 14, 89-93.
- Debold, J. F., Miczek, K. A. 1984. Aggression persists after ovariectomy in female rats. *Hormones and behavior*. 18, 177-190.
- Demas, G. E.; Cooper. M. A.; Albers. H. E.; Soma. K. K. 2007. Novel mechanisms underlying neuroendocrine regulation of aggression: a synthesis of rodent, avian, and primate studies. Springer-Verlag Berlin. 338-362.

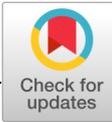
- Duque-Wilckens, N., Trainor, B. 2017. Behavioral Neuroendocrinology of Female Aggression. Oxford Research Encyclopedia of Neuroscience. 36 p.
- Elekonich, M. M., Wingfield, J. C. 2000. Seasonality and hormonal control of territorial aggression in female song sparrows (Passeriformes: Emberizidae: *Melospiza melodia*). Ethology. 106, 493-510.
- Erb, G. E., Edwards, H. E., Jenkins, K. L., Mucklow, L. C., Wynne-Edwards, K. E. Induced components in the spontaneous ovulatory cycle of the Djungarian hamster (*Phodopus campbelli*). Physiology and Behavior. 54(5) 955-959, 1993).
- Floody, O. R. 1983. Hormones and aggression in female mammals, en: Svare, B. B. Hormones and Aggressive Behavior. 39–89. New York, Plenum Press.
- Floody, O. R., Pfaff, D. W. 1977. Aggressive behavior in female hamsters: The hormonal basis for fluctuations in female aggressiveness correlated with estrous state. Journal of Comparative and Physiological Psychology. 91 (3), 443-464.
- Gill, S. A., Alfson, E. D., Hau, M. 2007. Context matters: female aggression and testosterone in a year-round territorial neotropical songbird (*Thryothorus leucotis*). Proc. R. Soc. B. 274, 2187–2194.
- Gleason, P. E., Michael, S. D., Christian, J. J. 1979. Effects of gonadal steroids on agonistic behavior of female (*Peromyscus leucopus*). Hormones and Behavior. 12, 30–39.
- Goymann, W.; Wittenzellner, A.; Schwabl, I., Makomba, M. 2008. Progesterone modulates aggression in sex-role reversed female African black coucals. Proc. R. Soc. B. 275, 1053–1060.
- Gutzler, S. J., Karom, M; Erwin, W. D., Albers, H. E. 2009. Photoperiodic regulation of adrenal hormone secretion and aggression in female Syrian hamsters. Horm Behav. 56(4), 481–489.
- Hasler, J., Banks, M. 1976. The behavioral and somatic effects of ovariectomy and replacement therapy in female collared lemmings (*Dicrostonyx groenlandicus*). Hormones and behavior. 7, 59-74.

- Hay A. C., Pankhurst N. W. 2005. Effect of paired encounters on plasma androgens and behaviour in males and females of the spiny damselfish *Acanthochromis polyacanthus*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. 38(2), 127-138.
- Huck, U. W., Carter, C. S. Banks, E. M. 1979. Estrogen and progesterone interactions influencing sexual and social behavior in the brown lemming, *Lemmus trimucronatus*. *Hormones and Behavior*. 12 (1), 40-49.
- Hyde, J.S., Sawyer, T.F. 1977. Estrous cycle fluctuations in aggressiveness of house mice. *Hormones and behavior*. 9, 290–295.
- Jawor, J. M.; Young, R., Ketterson, E. D. 2006. Females competing to reproduce: Dominance matters but testosterone may not. *Hormones and Behavior*. 49 362–368.
- Kapusta J. 1998. Gonadal Hormones and Intrasexual Aggressive Behavior in Female Bank Voles (*Clethrionomys glareolus*). *Aggressive behavior*. 24, 63 70.
- Koolhaas, J.M., Coppens, C.M., de Boer, S.F., Buwalda, B., Meerlo, P., Timmermans, P.J. 2013. The Resident-intruder Paradigm: A Standardized Test for Aggression, Violence and Social Stress. *J. Vis. Exp.* (77), e4367.
- Langmore, N.E., Cockrem, J. F., Candy, E.J. 2002. Competition for male reproductive investment elevates testosterone levels in female dunnocks, *Prunella modularis*. *Proc. R. Soc. B*. 269, 2473–2478.
- Lincoln, G. A., Guinness, F., Short, R. V. 1972. The Way in Which Testosterone Controls the Social and Sexual Behavior of the Red Deer Stag (*Cervus elaphus*). *Hormones and Behavior*. 3, 375-396.
- McCarthy, M. M. 2008. Estradiol and the Developing Brain. *Physiol Rev. The American Physiological Society*. 88, 91–134.
- Miller B. H., Takahashi J. S. 2013. Central Circadian Control of Female Reproductive Function. *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 4:195.
- Moyer, K.E. 1968. Kinds of aggression and their physiological basis. *Communications in Behavioral Biology*. 2, 65-87.

- Neill, J. D. 2006. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3ed. Vol 1. Academic Press, Elsevier Inc.
- Nelson, R. J., Trainor, B. C. 2007. Neural mechanisms of aggression. Nature Reviews Neuroscience. 8, 536-546.
- Nomura, M., Durbak, L., Chan, J., Smithies O., Gustafsson, J., Korach, K. S., Pfaff, D. W., Ogawa, S. 2002. Genotype/Age Interactions on Aggressive Behavior in Gonadally Intact Estrogen Receptor Knockout (ERKO) Male Mice. Hormones and Behavior. 41, 288–296.
- Ogawa, S., Lubahn, D. B., Korach, K. S., Pfaff, D. W. 1997. Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. Neurobiology, Proc. Natl. Acad. Sci. (94): 1476–1481.
- Pankhurst, N. W., C. W. Barnett. 1993. Relationship of population density, territorial interaction and plasma levels of gonadal steroids in spawning male demoiselles *Chromis dispilus* (Pisces:pomacentridae). General and comparative endocrinology. 90, 168-176.
- Pärn, H.; Lindström, K. M.; Sandell, M., Amundsen, T. 2008. Female aggressive response and hormonal correlates—an intrusion experiment in a free-living passerine. Behav Ecol Sociobiol. 62,1665–1677.
- Pradhan, D. S., Newman, A. E. M., Wacker, D. W., Wingfield, J. C., Schlinger, B. A., Soma, K. K. 2010. Aggressive interactions rapidly increase androgen synthesis in the brain during the non-breeding season. Hormones and Behavior. 57, 381–389.
- Ramirez, M., Andreu, J. M. 2003. Aggression's Typologies. Revue internationale de psychologie sociale. 16 (3), 125-141.
- Ross, P. D. 1995. *Phodopus campbelli*. Mammalian species. The American Society of Mammologist. 503, 1-7.
- Rosvall, K. A. 2013. Proximate perspectives on the evolution of female aggression: good for the gander, good for the goose? Philosophical transactions of the royal society B. 368. 12 p.
- Rubenstein, D. R., Wikelski, M. 2005. Steroid hormones and aggression in female Galápagos marine iguanas. Hormones and Behavior. 48, 329 – 341.

- Schattman G., Esteves S., Agarwal A. 2015. Unexplained Infertility: Pathophysiology, Evaluation and Treatment. Springer, New York, NY.
- Scott, J. P., Frederickson, E. 1951. The causes of fighting in mice and rats. *Physiological Zoology*. XXIV (4). The university of Chicago press Journals.
- Scotti, M. L., Belén, J., Jackson, J. E., Demas, G. E. 2008. The role of androgens in the mediation of seasonal territorial aggression in male Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Physiology & Behavior*. 633–640.
- SENASICA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 2001. Diario Oficial de la Federación.
- Sikes, R. S., Gannon, W. L., Animal Care And Use Committee Of The American Society Of Mammalogists. 2011. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*. 92(1), 235–253.
- Soma, K. K. 2006. Testosterone and Aggression: Berthold, Birds and Beyond. *Journal of neuroendocrinol. PubMed Central*. 18(7), 543–551.
- Soma, K. K., Scotti, M. L., Newman, A. E. M., Charlier, T. D, Demas, G. E. 2008. Novel mechanisms for neuroendocrine regulation of aggression. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 29, 476–489.
- Stockley, P., Bro-Jørgensen, J. 2011. Female competition and its evolutionary consequences in mammals. *Biol. Rev.* 86, 341–366.
- Storbeck, KH., Schiffer, L., Baranowski, E. S., Chortis, V., Prete, A., Barnard, Gilligan, L. C., Taylor, A. E., Idkowiak, J., Arlt, W., Shackleton, C. H. L. 2019. Steroid Metabolome Analysis in Disorders of Adrenal Steroid Biosynthesis and Metabolism. *Endocrine Reviews* 40: 1605 – 1625, 2019.
- Trainor, B. C., Marler, C. A. 2010. *Aggression and Territoriality*. Elsevier. 30-34.

- Uhrich, J. The social hierarchy in albino mice. 1938. *Journal of Comparative Psychology*. 25(2), 373-413.
- Van de Poll, N. E., de Jonge, F., Van Oyen, H. G., Van Pelt, J. 1982. Aggressive Behaviour in rats: effects of winning or losing on subsequent aggressive interactions. *Behavioural Processes*. 7, 143-155.
- Whitsett, J. M., Gray, E., Bediz, G. M. 1979. Gonadal hormones and aggression toward juvenile conspecifics in prairie deer mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 6 (2), 165-168.
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M., Ball, G. F. 1990. The “challenge hypothesis”: theoretical implications for patterns of testosterone secretions, mating systems, and breeding strategies. 136 (6), 829-846.
- Wingfield, J. C., Soma, K. K. 2002. Spring and Autumn Territoriality in Song Sparrows: Same Behavior, Different Mechanisms? *Integ. And Comp. Biol.* 42, 11–20.
- Woodley, S. K., Moore, M. C. 1999. Ovarian Hormones Influence Territorial Aggression in Free-Living Female Mountain Spiny Lizards. *Hormones and Behavior*. 35 (3), 205–214.
- Wynne-Edwards, K. E., Lisk, R. D. 1984. Behavioral interactions differentiate Djungarian (*Phodopus campbelli*) and Siberian (*P. sungorus*) hamsters. *Canadian Journal of Zoology*. 65 (9): 2229-2235.



RESEARCH ARTICLE

AGGRESSIVE BEHAVIOR | WILEY

Territorial aggression by dwarf hamster females (*Phodopus campbelli*): A hormonal approach

José A. Olvera-Ramos¹ | Mario Cárdenas-León² | Juana Luis³

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, Mexico

²Laboratorio de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, Ciudad de México, Mexico

³Laboratorio de Biología de la Reproducción, UMF, FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Edo. de México, Mexico

Correspondence

Juana Luis, Av. de los Barrios No. 1, Col. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, 05490 Edo. México, C.P., México.
Email: luisdc@unam.mx

Funding information

Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), Grant/Award Number: IN218319

Abstract

Females of many vertebrate species are territorial. However, few studies have been performed on territorial aggression and its hormonal bases in females. The present study determined whether dwarf hamster females (*Phodopus campbelli*) display territorial aggression and the role that estradiol (E_2) and progesterone (P_4) play in this behavior. Two experiments were carried out. First, 28 virgin females were mated with sexually inexperienced males. The females were submitted to oviduct ligation 2 weeks before mating to prevent pregnancy. After 15 days of mating, 16 out of 28 females were submitted to resident-intruder tests, whereas the remaining 12 females were non-confronted. Blood samples were collected 30 min after the aggression tests to determine E_2 and P_4 by ELISA. In the second experiment, 40 females were mated with vasectomized males. Thirty days after mating, 30 dwarf hamsters were subjected to ovariectomy; 10 were nontreated, 10 were treated with E_2 , and 10 with P_4 . The remaining 10 were sham-operated. All females were submitted to resident-intruder tests, and blood samples were taken to quantify E_2 and P_4 . In the first experiment, 87.5% of dwarf hamster females displayed territorial aggression, and in the second, 100% of females were aggressive. Ovariectomy and ovariectomy plus E_2 or P_4 replacement did not affect aggressive territorial behavior. These results showed that this species' females are territorial, and this behavior is not dependent on ovarian steroid hormones.

KEYWORDS

dwarf hamster, estradiol, ovariectomy, progesterone, territorial aggression

1 | INTRODUCTION

Aggressive behavior is displayed by all living organisms when there is a conflict of interest regarding resources such as food, mates, or mating areas (Duque-Wilckens et al., 2019). A physical confrontation may be avoided by exhibiting submissive postures or ritualized combat (Soma et al., 2008). Aggression has been classified in different ways; Moyer (1971) ranked the conduct according to the social context in which it occurs, as maternal and territorial aggression. More recently, it was classified as offensive and defensive; the first one describes behaviors used for attack, whereas defensive aggression is the form of aggressive behavior performed in response to an attack by another individual

(Koolhaas et al., 2013). Territorial aggression is one of the most studied types of this conduct, displayed when there is competition for resources such as territory, mating partners, or food, all of which can be present in a socio-geographical area (Demas et al., 2007; Soma et al., 2015; Sousa & Casanova, 2006). In particular, these resources are necessary for the survival of the individual and its offspring (Duque-Wilckens et al., 2019; Scotti et al., 2008).

Although territorial aggression has been mainly attributed to males, females of many vertebrate species are also territorial. In a nonpregnant or nonmaternal female's social context, an attack displayed toward an intruder can be considered territorial aggression (Floody, 1983; Trainor & Marler, 2010). Regarding the females of monogamous species rodents,

territorial aggression maintains the social structure, limiting the access of their partners to other females, thus ensuring their reproductive performance (Bebié & McElligott, 2006; Rosvall, 2013; Woodley & Moore, 1999).

Ovarian hormones, mainly estradiol (E_2) and progesterone (P_4), exert a substantial effect on the development and expression of social behavior in vertebrates (Rubinow & Schmidt, 2002). Investigations on the role of these steroid hormones in the territorial aggression of females report contradictory results. In the laboratory rat (*Ratus norvegicus*), ovariectomy of the resident female has little effect on the proportion of attacking female intruders (DeBold & Miczek, 1984), whereas E_2 or $E_2 + P_4$ replacement reduced or blocked attack toward intruder females (Debold & Miczek, 1981). In white-footed mice (*Peromyscus leucopus*), ovariectomy eliminates aggressiveness. In this rodent, the treatment with E_2 does not affect aggressive behavior. However, higher doses of P_4 increase aggression (Gleason et al., 1979). In dune voles (*Clethrionomys glareolus*), intact females showed aggressive behavior more frequently than ovariectomized females, but females with P_4 , $P_4 + E_2$, or testosterone replacement significantly display more attacks than oil-treated voles (Kapusta, 1998).

From this perspective, we analyzed some endocrine aspects of territorial aggression using the female dwarf hamster (*Phodopus campbelli*) as a model. In this rodent, low aggression levels have been reported among virgin females by home areas (Wynne-Edwards & Lisk, 1987). Thus, we determined whether female dwarf hamster displays territorial aggression and the role of hormonal sex steroids, especially E_2 and P_4 , to regulate this behavior under mating social context. Dwarf hamster inhabits the steppes and semi-deserts of Central Asia (Ross, 1995), it is a monogamous species, and both males and females participate in taking care of the pups (Wynne-Edwards, 1995).

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Animals

Virgin dwarf hamster females aged 48–70 days old, weaned at 17–20 days, were used in this study. They were obtained from a breeding colony maintained at the Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. The animals were kept under an inverted photoperiod of a 12:12 light-dark cycle (onset light at 0800 h), and an ambient temperature between 17°C and 21°C. They were fed Lab Chow 5001 pellets (Nutrimentos Purina) and tap water ad libitum. The diet was supplemented with sunflower seeds once a week. Two or three females were housed in a polycarbonate cage (27 × 21 × 14 cm) with sawdust bedding and remained in these conditions until the start of the study. Two experiments were performed. In the first one, it was determined whether female dwarf hamsters display territorial aggression. In the second, we analyzed the effect that ovariectomy, E_2 , and P_4 replacements could play in this rodent aggressivity. Testosterone was not considered because it is usually transformed

into E_2 . Furthermore, high concentrations of this hormone are not compatible with female reproductive processes (Gleason et al., 2009; Wingfield and Soma, 2002).

All experiments were performed in accordance with the ethical guidelines of the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publication No. 8023) and the ethical guidelines of the Official Mexican Standard that regulates technical specifications for the production, care, and use of laboratory animals (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2001). The research protocol was analyzed and approved by the Ethics Committee of Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

2.2 | Experiment 1

To determine territorial aggression, first, 28 virgin dwarf hamster females were paired (female and male) with virgin males, since mating housing enhances territoriality in monogamous species (Kapusta, 1998), such as this rodent (Ross, 1995). In these experiments, we chose males larger than the females because, based on our experience, small males could be attacked by the females and even kill them. In all females, the oviducts were ligated 2 weeks before mating to prevent pregnancy. The occurrence of copulation was confirmed during the first week by the presence of sperm in vaginal smears. We found that pair-bonding was established when the male and female slept curled up, and the female no longer attacked the male. After 15 days of mating, 16 of 28 females were submitted to resident-intruder tests, whereas the remaining 12 nonconfronted females were used as controls. The males were removed from their respective mating cage 30 min before the resident-intruder tests. Females were tested without knowledge of the stage of their estrous cycles because, in this species, it is not possible to determine the phases of the estrous cycle through vaginal smears (Wynne-Edwards & Lisk, 1987). Thirty minutes after performing the resident-intruder tests, blood samples were taken to quantify E_2 and P_4 concentrations. We waited for this length of time because it allows us to detect an increment in ovarian steroid hormones (Davis & Marler, 2003). The samples were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using a DRG Diagnostics commercial kit following the manufacturer's instructions (Germany, International).

2.3 | Experiment 2

Forty virgin females within the same age range were mated with sexually inexperienced males for a month. Although in Experiment 1, copulation occurred during the first mating week, we decided to lengthen the mating period to allow greater cohesion between the couple, since ovariectomized dwarf hamsters are more aggressive than intact females. The males were vasectomized due to the females undergoing later ovariectomy or sham ovariectomy. One month after mating, 30 of the 40 females were randomly subjected to ovariectomy,

whereas the remaining 10 females experienced sham-ovariectomy. Thirty days after the surgeries of these 30 ovariectomized females, 10 were nontreated, 10 were treated with E_2 , and 10 with P_4 . Sham ovariectomized females were treated only with sesame oil. β -oestradiol 3-benzoate (100 μ g/kg) or progesterone (100 μ g/kg) was administered through a subdermal injection in the dorsal region for 3 consecutive days, before the resident-intruder tests. In this experiment, all females were confronted. The hormones were dissolved in sesame oil (Sigma-Aldrich). Similar to Experiment 1, blood samples were obtained 30 min after the resident-intruder tests to quantify the concentrations of E_2 and P_4 through ELISA. The doses administered do not exceed the concentrations registered for Siberian hamster (*P. campbelli*), a related species (Rendon et al., 2017).

2.4 | Surgical procedures

Vasectomy: Two weeks before mating, male dwarf hamsters were anaesthetized with 10 mg/kg xylazine and 80 mg/kg ketamine (intramuscular). After the scrotal region was depilated and disinfected, a small incision was made in the middle transversal line along the scrotum. Then, the testicle, epididymis, and vas deferens were exposed. The vas deferens was ligated near the cauda of the epididymis with 5.0 catgut at two different points with an approximate separation of 0.5 mm. The segment of the vas deferens located between the two ligation points was sectioned, and the testicle was carefully returned into the scrotal cavity. Internal and external tissues were sutured, as previously described. One hour after surgery, 66 mg/kg ketorolac (intramuscular) was administered as an analgesic. The animals were returned to the mating cage 24 h later.

Oviduct ligation and ovariectomy: Anesthesia and asepsis were performed by the procedure described above. An incision was made in the abdominal region to expose the internal organs, and the ovaries were located. Oviducts were ligated (5.0 catgut) distal to the uterus and proximal to the ovary and sectioned between the ligatures. The arteries running on either side of the ovary were ligated (5.0 catgut), and the ovaries removed. The internal tissues in the abdominal cavity were immediately sutured with 5.0 catgut and external tissues with 5.0 black silk thread. As already indicated, the animals received 66 mg/kg ketorolac (intramuscular). The females were returned to their mating cages 24 h later.

2.5 | Resident-intruder test

The males were removed from their respective mating cage 30 min before the resident-intruder tests. Mating cages had the same characteristics as those in which they were housed after weaning. Afterward, a foreign female was introduced into the cage; this female intruder had a weight equal to or lower than the resident female (≤ 3 g) since the confrontation with a smaller opponent often promotes aggression (Cain & Ketterson, 2012; Koolhaas et al., 2013). The intruders were virgin females with an age range similar to the paired females and previously kept with 2–3 individuals per cage since weaning. Resident-intruder tests

were performed in the same room in which they remained throughout the experiment. In females nonconfronted, the males were also removed from their cages and left alone, so they did not elicit any other aggression. Resident-intruder tests were carried out between 0014 h and 0017 h. The observation period lasted for only 5 min to prevent the opponents from being seriously harmed; this time-lapse has been shown sufficient for aggressive behavior. All tests were videotaped with a high definition infrared camera (IR Bullet camera, 2.1 megapixels). The attack latency and total time of attack were recorded. The former was defined as the time elapsed from the initial placement of the intruder female into the resident's cage until the time it was attacked (Koolhaas et al., 2013; Trainor & Marler, 2010), whereas the latter was defined as the sum of the time spent attacking. Behaviors frequency displayed by resident and intruder females during confrontations were also recorded.

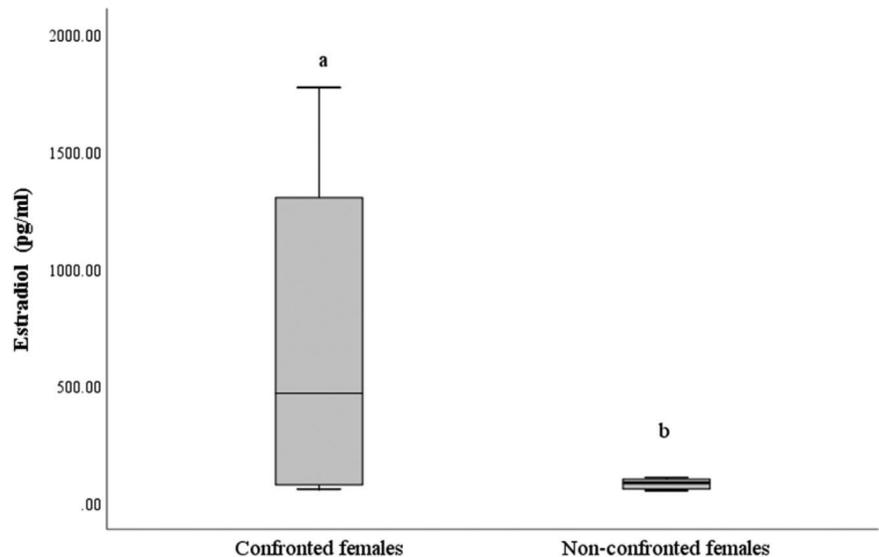
2.6 | Hormone assays

Thirty minutes after the aggressive behavior tests, dwarf hamster females were anesthetized with xylazine (5 mg/kg) and ketamine (40 mg/kg), and blood samples (250 μ l) were taken from the retro-orbital sinus using heparinized capillary tubes. Each blood sample was collected within 1 min between 15:00 and 16:30 h. The plasma was separated by centrifugation and stored at -20°C . E_2 and P_4 concentration analyses were performed by ELISA using a DRG Diagnostics commercial kit (Germany, International, Inc.). The E_2 assay had a sensitivity of 10.6 pg/ml, and the intra-assay and inter-assay coefficients of variation were 6.6% and 6.7%, respectively. These results were validated by correlating the plasma dilution and the calibration curve, setting a recovery rate of 95%, $r = .89$. Regarding P_4 , the analytical threshold was set at 0.04 ng/ml, with intra-assay and inter-assay coefficients of variation of 5.2% and 7.3%, respectively. These results were validated by correlating the plasma dilution and the calibration curve, setting a recovery rate of 92%, $r = .82$.

2.7 | Statistical analysis

Experiment 1: The attack latency and total time of attack data were correlated with the E_2 and P_4 concentrations using Spearman's correlation. The concentrations of E_2 and P_4 were compared between the confronted and nonconfronted females using the Mann–Whitney U test. Data of resident females that did not display aggression were not included in the statistical analysis. **Experiment 2:** The data regarding attack latency and total time of attack were correlated with E_2 and P_4 concentrations using Spearman's correlation analyses. The data from attack latency and total time of attack from ovariectomized + E_2 , ovariectomized + P_4 , ovariectomized and sham-ovariectomized dwarf hamsters were evaluated using the Kruskal–Wallis test. During resident-intruder tests, the behaviors recorded were grouped as offensive (biting, boxing, pushing, struggling, flat-back, and chasing) and defensive (rolling in her back and escaping). The frequencies of offensive behaviors of ovariectomized + E_2 , ovariectomized + P_4 , ovariectomized and

FIGURE 1 E₂ concentrations were significantly higher in confronted females dwarf hamster. Data show medians, SE, and interquartil range. The letters indicate significant differences



sham-ovariectomized dwarf hamster females were analyzed using the Kruskal–Wallis test. This test was also used to compare the frequencies of defensive behaviors between ovariectomized + E₂, ovariectomized + P₄, ovariectomized and sham-ovariectomized dwarf hamster females. Likewise, the same test was used to compare the concentration of E₂ or P₄ between ovariectomized, sham-ovariectomized, ovariectomized + E₂, and ovariectomized + P₄ females. Nonparametric tests were used due to the non-normality of the data (Anderson–Darling test, $p > .05$). Pairwise comparisons were performed using the Mann–Whitney U test with Bonferroni correction.

Statistical analyses were performed using SPSS version 21.0 software (IBM SPSS, Armonk, NY).

3 | RESULTS

3.1 | Experiment 1

Exploration was usually the first form of interaction with the intruder during aggressive encounters. The resident female sniffed the intruder immediately, attacking afterward. The attacks consisted of bites, boxing, pushing, struggling, flat-back, chase, and escaping behavior. These actions occurred as follows: the resident bit the intruder flanks, snout, legs, paws, and belly; boxing: the resident remained upright, with her hindlegs resting on the substrate, then she scratched and pushed with the forepaws; struggling: the resident tried to throw the intruder on her back, dominating her and then sniffing the anogenital region, and chasing the intruder. Then the intruder displayed submissive behavior by rolling on her back and exposing her belly. Usually, the struggle continued with interlacing. Once the resident female stopped the attack, she allowed the intruder female to get up and flee, to jump or hang from the grid of the cage lid, to escape before the resident attacked her again. These behaviors were repeated throughout the observation period. The results showed that 87.5.0% ($n = 14$) of dwarf hamster females

displayed territorial aggression during the resident-intruder test, whereas 12.5.0% ($n = 2$) did not exhibit aggression. The attack latency median was 26 s (range 3–79 s). On the other hand, the median for the total time of the attack was 95 s (range 9–246 s). Attack latencies did not correlate with E₂ ($r = -.07$, $p = .80$) or P₄ concentrations ($r = .02$, $p = .09$). The total time of attack did not correlate with E₂ ($r = .20$, $p = .51$) or P₄ concentrations ($r = .13$, $p = .06$). The concentration of E₂ in the confronted females (median = 469.89 pg/ml, range 61.03–1773.37 pg/ml) that displayed aggression was significantly higher than that observed in the nonconfronted females (median = 87.86 pg/ml, range 54.88–375.75 pg/ml), ($W = 284$, $p < .05$, Figure 1). However, the concentration of P₄ was not different between confronted (median = 2.57 ng/ml, range 0.43–9.49 ng/ml) and nonconfronted females (median = 2.42 ng/ml, range 0.03–9.89 ng/ml; $W = 245$, $p > .05$).

3.2 | Experiment 2

Territorial aggression was exhibited during the resident-intruder tests by 100% of ovariectomized dwarf hamsters, 100% of females submitted to the sham procedure, 100% of ovariectomy + E₂ females, and 100% of ovariectomy + P₄ females. The attack latency and total time of attack of dwarf hamsters subjected to ovariectomy, sham procedure, ovariectomy + E₂, and ovariectomy + P₄ were not significantly different ($H = 0.33$, $df = 3$, $p > .05$; $H = 2.82$, $df = 3$, $p > .05$), respectively; Figure 2). No significant difference was found between the frequency of offensive ($H = 6.31$, $df = 3$, $p > .05$) and defensive behaviors ($H = 3.10$, $df = 3$, $p > .05$) among ovariectomized, sham procedure and ovariectomized + E₂ or ovariectomized + P₄ dwarf hamster females. E₂ concentrations between ovariectomized (median = 75.51, pg/ml range 12.3–120.85 pg/ml), ovariectomy + E₂ (median = 770.01 pg/ml, range 143.1–2066.52 pg/ml), and sham-procedure (median = 95.29 pg/ml, range 17.44–385.77 pg/ml) dwarf hamsters were significantly different ($H = 14.40$, $df = 2$, $p < .05$, Figure 3). Pairwise comparisons indicated that the levels of this hormone in plasma were significantly higher in dwarf hamsters subjected to

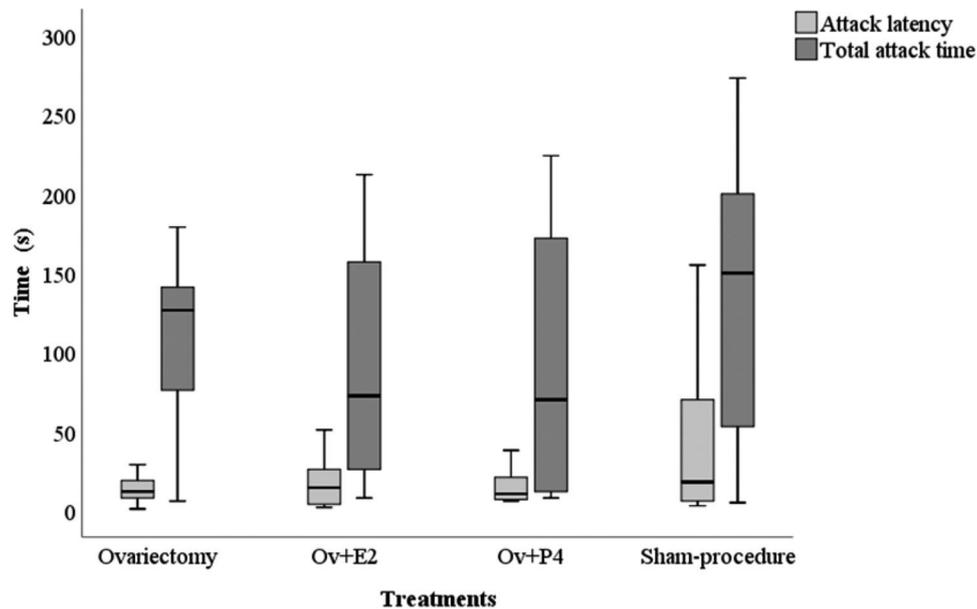


FIGURE 2 Attack latency and total attack time of females submitted to different treatments were not significantly different. Data show medians, SE, and interquartil range

ovariectomy + E₂ replacement than in those submitted to ovariectomy or sham procedure alone ($U = 13, p = .004$). However, the concentrations of E₂ were not significantly different between the ovariectomized and sham procedure groups ($U = 33, p = .22$; Bonferroni $p = .016$). On the other hand, although the concentrations of P₄ in dwarf hamsters subjected to ovariectomy (median = 0.44 ng/ml range 0–5.7 ng/ml) were comparatively lower than those registered in ovariectomy + P₄ (median = 2.92, ng/ml, range 1.73–5.75 ng/ml) replacement and sham procedure females (median 1.63, ng/ml range 0.13–7.91 ng/ml), these were not significantly different ($H = 2.97, df = 2, p > .05$, Figure 4).

4 | GENERAL DISCUSSION

Offensive and defensive behaviors recorded in the female of dwarf hamster are similar to those reported for females and males of other rodents; for example, bites, boxing, pushing, struggling, flat-back, chase, and escaping behavior. These have also been observed in the rat, mouse and hamster (Scott, 1966; Vandenberg, 1971). In the first experiment, 87.5% of dwarf hamster females displayed aggressive behavior toward other females during resident-intruder tests, thus indicating territorial aggression. These results differ from those

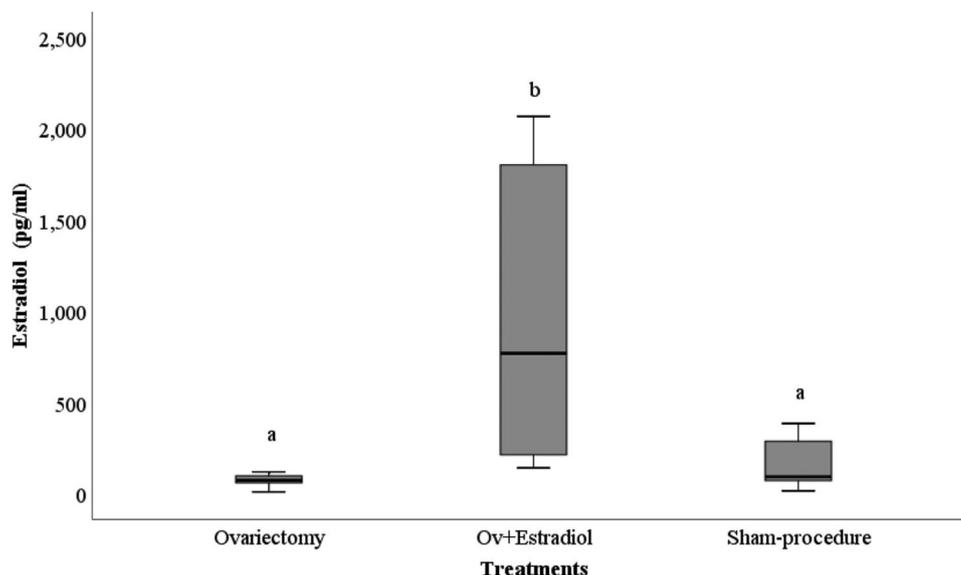


FIGURE 3 E₂ replacement caused a significant increase of this hormone, but there was no difference between ovariectomized dwarf hamster and those with sham-procedure. Data show medians, SE, and interquartil range. The letters indicate significant differences

obtained by Wynne-Edwards and Lisk (1987). This difference may be due to experimental designs; they used virgin females that were placed in larger enclosures with communication through a guillotine door. Furthermore, dwarf hamster females were only habituated to the enclosures 24 h before the first test. In this social context, the probability of fighting for territory is very low. Studies on territorial aggression in rodents generally used housed periods of 1 or 2 weeks under mating conditions (Koolhaas et al., 2013). The fact that not all dwarf hamster females displayed territorial aggression may be due to different factors, such as intraspecific variability, life history, hierarchy, and mating period. The percentage of dwarf hamster females that displayed territorial aggression was slightly higher than that observed in California mouse females, a monogamous species in which 79% of females exhibit territorial aggression (Davis & Marler, 2003). However, in Experiment 2, 100% of dwarf hamster females showed aggression, regardless of the treatment. Possibly, because the females in Experiment 2 remained paired for more than a month, which could reinforce territoriality (Koolhaas et al., 2013). Interestingly, male rodents such as laboratory rats and mice display territorial aggression in 75% and 100% of cases, respectively (DeBold & Miczek, 1984; Koolhaas et al., 2013), which is within the same percentage range of aggressive dwarf hamster females.

The data obtained from Experiment 1 showed no correlation between attack latencies or total time of the attack and the concentration of E_2 or P_4 , suggesting that these ovarian steroids are not involved in regulating territorial aggression in dwarf hamster females. These results are consistent with those obtained in Experiment 2, in which attack latencies, the total time of the attack, and the frequencies of offensive and defensive behaviors of dwarf hamster females submitted to ovariectomy, with or without E_2 or P_4 treatments, were not significantly different. This suggests that the displays of territorial aggression by female dwarf hamsters are not

dependent on ovary-derived steroid hormones. DeBold and Miczek (1984) reported that in the laboratory rat, ovariectomy does not eliminate aggression of resident females toward intruder females, even 7 weeks after this surgery. In deer mouse (*P. maniculatus*), an adult female attack is not influenced by ovariectomy (Whitsett et al., 1979). Likewise, in females of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*), gonadectomy fails to reduce aggression toward intact females, and injections of testosterone or E_2 do not change the levels of aggression (Vandenbergh, 1971). In females of the Mongolian gerbil, ovariectomy eliminates aggressivity (Anisko et al., 1973), while in the White-footed mouse, it does not affect this behavior (Gleason et al., 1979).

Surprisingly, the concentration of E_2 in confronted dwarf hamster females was significantly higher than that in nonconfronted ones, suggesting the confrontation itself causes the increase in E_2 . In this regard, it is known that the concentration of testosterone becomes increased in some bird and rodent males after an aggressive encounter (Duque-Wilckens et al., 2019; Gleason et al., 2009). This event is known as the challenge hypothesis (Wingfield et al., 1990). However, testosterone's ability to promote and facilitate territorial aggression in males has been demonstrated in a wide variety of animal species. In contrast, the role of E_2 in the regulation of territorial aggression in dwarf hamster females has not yet been established. On the other hand, it is complicated to explain why, after a dwarf hamster female confrontation, E_2 concentration increases, but the ovariectomy does not eliminate territorial aggression. We think that E_2 might come from a non-ovarian source, as discussed below. In the Galapagos iguana (*Amblyrhynchus cristatus*), fighting females had significantly higher E_2 concentration than non-fighting females (Rubenstein & Wikelski, 2005).

Unlike E_2 , P_4 concentrations between confronted females and nonconfronted females were not significantly different. However, in the California mouse, P_4 concentration decreased after a simulated

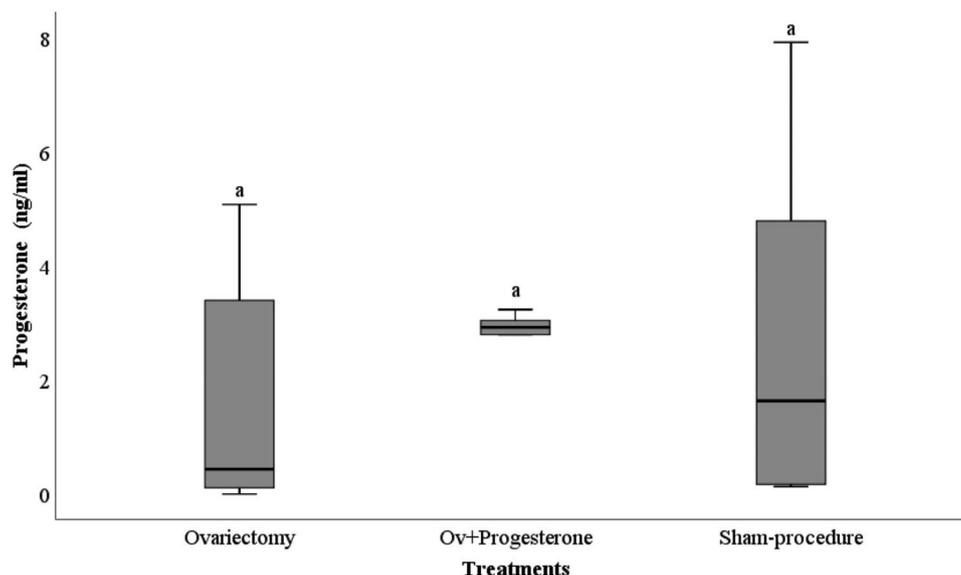


FIGURE 4 P_4 concentrations of dwarf hamster submitted to ovariectomized, ovariectomized + P_4 and sham-procedure were not significantly different. Data show medians, SE, and interquartil range. The letters indicate significant differences

intrusion (Davis & Marler, 2003). The results of this study showed considerable variations in P_4 concentrations, which could be due to the endocrinological condition of the female, for example, differences due to the estrous cycle and even pseudo-pregnancy. Two females had P_4 concentrations of approximately 10 ng/ml, a serum concentration reported for pseudo-pregnant female dwarf hamsters (Heather & Wynne-Edwards, 1994).

Ovariectomized dwarf hamsters showed E_2 concentrations far from zero, which would not be expected after ovariectomy. Furthermore, although these concentrations were comparatively lower than those observed in females submitted to the sham procedure, these were not significantly different, suggesting another source of this steroid hormone. Territorial aggression in dwarf hamster females could depend on the synthesis of E_2 from hormonal precursors, such as dehydroepiandrosterone, produced by the adrenal glands (Wingfield & Soma, 2002). This steroid is a pro-hormone that may be converted into testosterone, which in turn can be aromatized into E_2 (Scotti et al., 2008; Wingfield & Soma, 2002). It is also possible that neural regions that regulate territorial aggression enhance their sensitivity to E_2 by increasing estrogen receptors (Pelín et al., 2017). This mechanism has been observed in Siberian hamster females (*P. sungorus*), a species closely related to the dwarf hamster. Females of this rodent exhibit territorial aggression in short days when E_2 concentrations are basal. So high concentrations of E_2 are not necessary for displaying this behavior because the areas regulating territorial aggression, such as the periaqueductal gray of the midbrain, medial portion of the bed nucleus of the stria terminalis, and the ventral part of the lateral septum, enhance their sensitivity to this hormone through an increase in the number of ER α (Rendon et al., 2017).

Although the concentration of P_4 in dwarf hamsters submitted to ovariectomy + P_4 was comparatively higher than that in females with sham-operation, the difference was not significant. The lack of significance could be due to the variations in the concentrations of this hormone observed in females with simulated ovariectomy. Maybe some of these females were pseudo-pregnant, as mentioned above (Heather & Wynne-Edwards, 1994). Also, this absence of significance could be due to this hormone's inactivation in the adipose tissue by its transformation into 20 α -hydroxyprogesterone (Zhang et al., 2009), since P_4 was administered in the dorsal region.

A low concentration of P_4 was still present after ovariectomy, similar to E_2 ; this could be due to adrenal gland activity, which also produces P_4 (Fajer et al., 1971). In this study, P_4 replacement does not affect territorial aggression in females of the dwarf hamster. Females Syrian hamster treated with a single dose of P_4 showed baseline levels of aggression. However, when they received two doses of this hormone, aggression level was significantly higher than those baseline levels (Meisel & Stener, 1990). In other rodents, the function of P_4 in the regulation of territorial aggression is uncertain, as it has been both negatively and positively correlated with aggressive behavior depending on the species and context (Davis & Marler, 2003; Elekonich & Wingfield, 2000).

The nondependence of the territorial aggression behavior on ovarian steroid hormones in dwarf hamster females could be an adaptative strategy through which she can defend her territory with the same

intensity at all times, regardless of the variations in E_2 and P_4 concentrations throughout the estrous cycle.

The fact that ovariectomy does not eliminate territorial aggression in dwarf hamster females suggests that this behavior is not dependent on ovarian steroid hormones. Therefore, future studies could be focused on determining the role of steroid hormones from the adrenal gland and the changes in sensitivity to E_2 associated with the display of territorial aggression.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de Universidad Nacional Autónoma de México (IN218319). The authors thank the PhD degree program in Ciencias Biológicas de Universidad Nacional Autónoma de México. The authors are grateful to Carmen Álvarez for her technical assistance.

CONFLICTS OF INTEREST

All co-authors to confirm agreement with the final statement.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Juana Luis  <http://orcid.org/0000-0001-6490-8825>

REFERENCES

- Anisko, J. J., Christenson, T., & Buehler, M. G. (1973). Effects of androgen on fighting behavior in male and female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Hormones and Behavior*, 4(3), 199–208. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(73\)90004-4](https://doi.org/10.1016/0018-506X(73)90004-4)
- Bebí, N., & McElligott, A. G. (2006). Female aggression in red deer: Does it indicate competition for mates? *Mammalian Biology*, 71(6), 347–355. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2006.02.008>
- Cain, K. E., & Ketterson, E. D. (2012). Competitive females are successful females; phenotype, mechanism, and selection in a common songbird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66(2), 241–252. <https://doi.org/10.1007/s00265-011-1272-5>
- Davis, E. S., & Marler, C. A. (2003). The progesterone challenge: Steroid hormone changes following a simulated territorial intrusion in female *Peromyscus californicus*. *Hormones and Behavior*, 44(3), 185–198. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(03\)00128-4](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(03)00128-4)
- Debold, J. F., & Miczek, K. A. (1981). Sexual dimorphism in the hormonal control of aggressive behavior of rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 14, 89–93. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(81\)80015-9](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(81)80015-9)
- DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (1984). Aggression persists after ovariectomy in female rats. *Hormones and Behavior*, 18(2), 177–190. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(84\)90041-2](https://doi.org/10.1016/0018-506X(84)90041-2)
- Demas, G. E., Cooper, M. A., Albers, H. E., & Soma, K. K. (2007). Novel mechanisms underlying neuroendocrine regulation of aggression: A synthesis of rodent, avian and primate studies. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, 337e372. https://doi.org/10.1007/978-0-387-30405-2_8
- Duque-Wilckens, N., Trainor, B. C., & Marler, C. A. (2019). Aggression and territoriality. *Encyclopedia of Animal Behavior*, 2, 539–546. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90064-5>
- Elekonich, M. M., & Wingfield, J. C. (2000). Seasonality and hormonal control of territorial aggression in female song sparrows (Passeriformes:

- Emberizidae: *Melospiza melodia*). *Ethology*, 106(6), 493–510. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0310.2000.00555.x>
- Fajer, A. B., Holzbauer M., & Newport, M. H. (1971). The contribution of the adrenal gland to the total amount of progesterone produced in the female rat. *The Journal Physiology*, 214(1), 115–126. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1971.sp009422>
- Floody, O. R. (1983). Hormones and aggression in female mammals. *Hormones and Aggressive Behavior* (pp. 39–89). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3521-4_3
- Gleason, E. D., Fuxjager, M. J., Oyegbile, T. O., & Marler, C. A. (2009). Testosterone release and social context: When it occurs and why. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30(4), 460–469. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.04.009>
- Gleason, P. E., Michael, S. D., & Christian, J. J. (1979). Effects of gonadal steroids on agonistic behavior of female *Peromyscus leucopus*. *Hormones and Behavior*, 12(1), 30–39. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(79\)90024-2](https://doi.org/10.1016/0018-506X(79)90024-2)
- Heather, E. E., & Wynne-Edwards, K. E. (1994). Spontaneous termination of an induced pseudopregnancy in the Djungarian hamster, *Phodopus campbelli*. *Hormones and Behavior*, 28(2), 165–180. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1994.1014>
- Kapusta, J. (1998). Gonadal hormones and intrasexual aggressive behavior in female bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Aggressive Behavior*, 24(1), 63–70. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2337](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2337)
- Koolhaas, J. M., Coppens, C. M., de Boer, S. F., Buwalda, B., Meerlo, P., & Timmermans, P. J. (2013). The resident-intruder paradigm: A standardized test for aggression, violence and social stress. *JoVE: Journal of Visualized Experiments*, 77), e4367. <https://doi.org/10.1080/08820139.2018.1515222>
- Meisel, L. R., & Stener, R. M. (1990). Progesterone inhibition of sexual is accompanied by an activation of aggression in female Syrian hamsters. *Physiology and Behavior*, 47, 415–417. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90102-A](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90102-A)
- Moyer, K. E. (1971). *The physiology of hostility* (Markham psychology series). Markham Pub. Co.
- Pelin, Y., Gamze, A., Suma, D. U., Gizem, G., & Mesut, M. (2017). Molecular mechanism of estrogen–estrogen receptor signaling. *Reproductive Medicine and Biology*, 16(1), 4–20.
- Rendon, N. M., Amezcua, A. C., Proffitt, M. R., Bauserman, E. R., & Demas, G. E. (2017). Aggressive behaviours track transitions in seasonal phenotypes of female Siberian hamsters. *Functional Ecology*, 31(5), 1071–1081. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12816>
- Ross, P. D. (1995). *Phodopus campbelli*. *Mammalian Species*, 503, 1–7. <https://doi.org/10.2307/3504253>
- Rosvall, K. A. (2013). Proximate perspectives on the evolution of female aggression: Good for the gander, good for the goose? *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, 368(1631), 20130083. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0083>
- Rubenstein, D. R., & Wikelski, M. (2005). Steroid hormones and aggression in female Galapagos marine iguanas. *Hormones and Behavior*, 48(3), 329–341. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.04.006>
- Rubinow, R. D., & Schmidt, J. P. (2002). Gonadal steroids, brain, and behavior: Role of context. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(2), 123–137.
- Scott, J. P. (1966). Agonistic behavior of mice and rats: A review. *American Zoology*, 6, 683–701.
- Scotti, M. A. L., Belén, J., Jackson, J. E., & Demas, G. E. (2008). The role of androgens in the mediation of seasonal territorial aggression in male Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Physiology & Behavior*, 95(5), 633–640. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.09.009>
- Soma, K. K., Rendon, N. M., Boonstra, R., Albers, H. E., & Demas, G. E. (2015). DHEA effects on brain and behavior: Insights from comparative studies of aggression. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 145, 261–272. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.05.011>
- Soma, K. K., Scotti, M. A. L., Newman, A. E., Charlier, T. D., & Demas, G. E. (2008). Novel mechanisms for neuroendocrine regulation of aggression. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29(4), 476–489. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.12.003>
- Sousa, C., & Casanova, C. (2006). Are great apes aggressive? A cross-species comparison. *Antropologia Portuguesa*, 22/23, 71–118. http://www.uc.pt/en/cia/publica/AP_artigos/AP22.23.04_Sousa_e_Casanova.pdf
- Trainor, B. C., & Marler, C. A. (2010). Aggression and territoriality. *Encyclopedia of Animal Behavior*, 2, 30–34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-045337-8.00248-5>
- Vandenbergh, J. G. (1971). The effects of gonadal hormones on the aggressive behaviour of adult golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Animal Behaviour*, 19(3), 589–594. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(71\)80116-1](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(71)80116-1)
- Whitsett, J. M., Gray, L. E., & Bediz, G. M. (1979). Gonadal hormones and aggression toward juvenile conspecifics in prairie deer mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 6(2), 165–168. <https://doi.org/10.1007/BF00292564>
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty, A. M., Jr., & Ball, G. F. (1990). The “challenge hypothesis”: Theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist*, 136(6), 829–846. <https://doi.org/10.1086/285134>
- Wingfield, J. C., & Soma, K. K. (2002). Spring and autumn territoriality in song sparrows: Same behavior, different mechanisms? *Integrative and Comparative Biology*, 42(1), 11–20. <https://doi.org/10.1093/icb/42.1.11>
- Woodley, S. K., & Moore, M. C. (1999). Ovarian hormones influence territorial aggression in free-living female mountain spiny lizards. *Hormones and Behavior*, 35(3), 205–214. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1999.1514>
- Wynne-Edwards, K. E. (1995). Biparental care in Djungarian but not Siberian dwarf hamsters (*Phodopus*). *Animal Behaviour*, 50(6), 1571–1585. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(95\)80012-3](https://doi.org/10.1016/0003-3472(95)80012-3)
- Wynne-Edwards, K. E., & Lisk, R. D. (1987). Behavioral interactions differentiate Djungarian (*Phodopus campbelli*) and Siberian (*Phodopus sungorus*) hamsters. *Canadian Journal of Zoology*, 65(9), 2229–2235. <https://doi.org/10.1139/z87-337>
- Zhang, Y., Nadeau, M., Faucher, F., Lescelleur, O., Biron, S., Daris, M., Rhéaume, C., Luu-The, V., & Tchernof, A. (2009). Progesterone metabolism in adipose cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 298(1-2), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.09.034>

How to cite this article: Olvera-Ramos JA, Cárdenas-León M, Luis J. Territorial aggression by dwarf hamster females (*Phodopus campbelli*): A hormonal approach. *Aggressive Behavior*. 2020;1–8. <https://doi.org/10.1002/ab.21943>