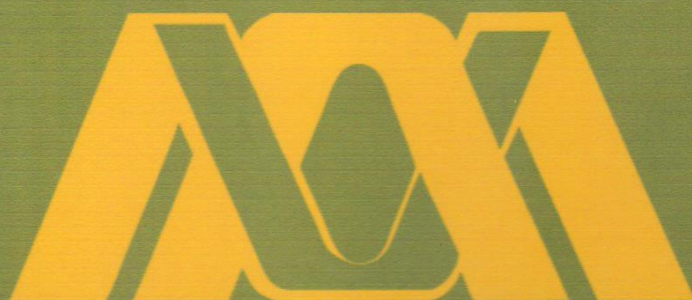


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



**Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho
Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja**

TESIS

**Que para tener el grado de Maestro en Biología de la
Reproducción Animal**

**PRESENTA
Biól. Antonio Cruz Benites**

Comité Tutorial:

**Director: Dr. Armando Ferreira Nuño
Asesor: Dra. Adriana Margarita Morales Otal
Asesor: Dr. José Luis Contreras Montiel**

Ciudad de México a 30 de Marzo de 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



Casa abierta al tiempo

**Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho
Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja**

T E S I S

**Que para tener el grado de Maestro en Biología de la
Reproducción Animal**

PRESENTA

Biól. Antonio Cruz Benites

Comité Tutorial:

Director: Dr. Armando Ferreira Nuño

Asesor: Dra. Adriana Margarita Morales Otal

Asesor: Dr. José Luis Contreras Montiel

Ciudad de México a 30 de Marzo de 2016

Comité Tutorial:

Director: Dr. Armando Ferreira Nuño, Departamento de Biología de la Reproducción. Área de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, fena@xanum.uam.mx

Asesor: Dra. Adriana Margarita Morales Otal, Departamento de Biología de la Reproducción. Área de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, otal@xanum.uam.mx

Asesor: Dr. José Luis Contreras Montiel, Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, jlcm@xanum.uam.mx

Jurado:

Dr. Javier Velázquez Moctezuma, Departamento de Biología de la Reproducción. Área de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa,
jvm@xanum.uam.mx

Dra. Adriana Margarita Morales Otal, Departamento de Biología de la Reproducción. Área de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa,
otal@xanum.uam.mx

Dr. José Luis Contreras Montiel, Departamento de Biología de la Reproducción. Área de Reproducción Animal Asistida, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa,
jlcm@xanum.uam.mx

Dra. Wendy Portillo Martínez, Instituto de Neurobiología. Juriquilla, Querétaro (INB)-UNAM, portillo@unam.mx, portillo654@yahoo.com

**La Maestría de Biología de la Reproducción Animal de la
Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón
de Posgrados de Excelencia del CONACyT 003797**

Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada “**Caracterización de la Conducta Sexual Masculina de la Rata Macho Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja**, con fecha 30 de Marzo del 2016”

JURADO:

Dr. Javier Velázquez Moctezuma

PRESIDENTE



Dra. Adriana Margarita Morales Ojal

SECRETARIO



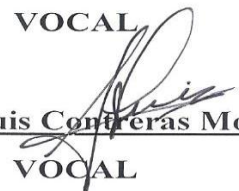
Dra. Wendy Portillo Martínez

VOCAL



Dr. José Luis Contreras Montiel

VOCAL



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a la vida, el poder darme la oportunidad de realizar algo en este mundo donde hay tantas cosas por hacer.

A mi Mamá y a mi Papá porque son las personas más maravillosas que he conocido. Por todos los valores que me han inculcado y por qué por ellos existo. Papá, Mamá son mi vida, los amo demasiado.

A Raquel, Pedro y Luis, por todo lo que me han brindado, su apoyo, comprensión, cariño, amistad, los amo hermanos.

A mi esposa Angélica por ser tan maravillosa conmigo, por todo el gran amor, paciencia, apoyo y por darme la dicha de ser padre, te amo chiquita hermosa.

A mi hijo Axel Zahir, que es mi vida y mi motor para seguir adelante. A ese angelito que llena mi vida de luz, sonrisas y de paz.

A todos aquellos que durante este proceso de maestría compartieron momentos de alegría, de tristeza, de triunfos y fracasos, por su amistad sin interés.

¡ G R A C I A S !

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer sinceramente y de todo corazón a la Dra. Adriana Morales Ota y al Dr. Armando Ferreira Nuño, por “darme la oportunidad” y su apoyo incondicional a lo largo de este estudio en instalaciones, consejos, sugerencias, correcciones, regaños, estímulos. Por haber compartido conmigo sus conocimientos y sus experiencias en mi formación profesional. Además de brindarme su invaluable amistad, de la cual me siento muy honrado. Gracias por todo Dres.

Al Dr. Jesús Olayo Lortia por sus palabras de aliento y consideraciones tan rudas que me hicieron forjarme y seguir adelante, pero sobre todo a todo mi equipo de trabajo del Lab. de Neurohistología y Conducta, quiénes estuvimos en los experimentos tan largos, pero siempre apoyándonos. Muchas gracias Equipo.

A la Dra. Wendy Portillo Martínez, por su comprensión y su valioso tiempo, sus atinadas sugerencias y correcciones en la revisión de esta tesis.

Al Dr. Javier Velázquez Moctezuma, por su valioso tiempo que me brindo al escuchar mis resultados y por sus acertados comentarios, sugerencias, recomendaciones, así como, por su comprensión y paciencia.

A la Dra. María del Rocío Zarate Hernández, por su valioso tiempo que me brindo al revisar las pruebas estadísticas que se emplearon en esta Tesis.

Al Dr. José Luis Contreras Montiel, sus comentarios y tiempo que me brindo en la revisión de esta Tesis.

A la Coordinación de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal, muy especialmente a la Lic. Verónica Cruz Taumori, al Dr. Pablo Damián Matsumura y al Dr. Miguel Ángel León Galván que me apoyaron incondicionalmente durante este posgrado.

Abreviaturas

CSM = Conducta Sexual Masculina

ASMP = Arena de selección Múltiple de Pareja

AT = Arena Típica

MSE = Macho Sexualmente Experto

LE = Latencia de Eyaculación

LI = Latencia de Intromisión

LM = Latencia de Monta

NI = Número de Intromisiones

NM = Número de Montas

PRPE = Periodo Refractario Post-Eyaculatorio

III = Intervalo Inter-Intromisión

IIC = Intervalo Inter-Copulatorio

FE = Frecuencia de Eyaculación

%SEy = Porcentaje de Sujetos que Eyaculan

%SsA = Porcentaje de Sujetos sexualmente Activos

%SM = Porcentaje de Sujetos que montan

%SI = Porcentaje de Sujetos que Intromiten

TA = Tasa de Aciertos

LQ = Cociente de Lordosis

T = Testosterona

E₂ = Estradiol

P₄ = Progesterona

BE = Benzoato de Estradiol

s = segundos

h = horas

mg = miligramos

ml = mililitros

ÍNDICE

1. RESUMEN-----	1
2. SUMMARY -----	4
3. INTRODUCCIÓN -----	6
4. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA -----	6
4.1 Patrones conductuales -----	6
4.2 Parámetros conductuales -----	8
4.3 Componentes de la conducta sexual masculina-----	10
5. CONDUCTA SEXUAL FEMENINA DE LA RATA -----	11
5.1 Patrones conductuales -----	11
5.2 COMPONENTES DE LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA -----	12
5.2.1 Atractividad -----	12
5.2.2 Proceptividad -----	13
5.2.3 Receptividad -----	14
6. PREFERENCIA SEXUAL DE PAREJA EN LA RATA -----	15
7. SELECCIÓN DE PAREJA -----	17
8. ANTECEDENTES -----	19
9. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN-----	24
10. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	24
11. HIPÓTESIS-----	24
12. OBJETIVOS -----	25
12.1 Objetivo General -----	25
12.2 Objetivos particulares-----	25
13. MATERIALES Y MÉTODO-----	26
13.1 Obtención y manejo de los animales -----	26
13.2 Evaluación de la Conducta Sexual Masculina de la Rata Macho en una Arena Típica-----	26
13.3 Evaluación de la Conducta Sexual Masculina de la Rata Macho en una Arena de Selección Múltiple de Pareja-----	28
13.4 Habitación de machos y hembras en la ASMP -----	28
13.5 Selección de las hembras estímulo para realizar la prueba de selección de pareja en la ASMP -----	29

13.6	<i>Prueba de preferencia olfatoria de las hembras en la ASMP</i>	30
13.7	<i>Evaluación de la Conducta Sexual y de Selección de Pareja de la Rata Macho en la ASMP</i>	30
13.	<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	33
14.	<i>RESULTADOS</i>	34
14.1	<i>Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja</i>	34
14.2	<i>Selección de Pareja en la Rata Macho Adulta Sexualmente Experta, en la ASMP</i>	42
14.2.1	<i>Relación del orden en que fueron visitadas las hembras por el macho con otros parámetros, en la selección de pareja</i>	42
14.2.2	<i>Influencia del olor en la selección de pareja de la rata macho</i>	43
14.2.3	<i>Influencia del Estimulo Recompensante que podría representar la primera Monta, Intromisión y Eyaculación en la Selección de Pareja</i>	46
14.2.4	<i>Preferencia de una hembra por varios machos</i>	48
15.	<i>DISCUSIÓN</i>	49
16.	<i>CONCLUSIONES</i>	56
17.	<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	58
18.	<i>ANEXOS</i>	66

1. RESUMEN

Para la observación de la conducta sexual masculina (CSM) en condiciones de laboratorio, el macho suele ser apareado en una arena estándar o típica (AT), constituida por una cámara rectangular o cilíndrica de acrílico transparente, en la que se le aparea con una hembra receptiva (HREC). En estudios previos, se ha demostrado que la conducta sexual de la rata, puede modificarse cuando se aparea con más de una pareja. Tal es el caso de la Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP), desarrollada por el Dr. Ferreira y cols., que consta de cuatro cilindros de acrílico colocados en círculo, que tienen en su base un agujero o entrada de acceso, que le permite al sujeto experimental que se coloca en el centro de la arena, aparearse simultáneamente con las ratas del sexo opuesto que hay en cada uno de los cuatro redondeles.

Tomando en cuenta lo anterior, en este estudio analizamos que parámetros de la CSM de la rata macho se modifican cuando se le aparea simultáneamente con cuatro HRC en una ASMP, en comparación con la que muestra la rata cuando se aparea con una sola HRC en una AT. Para ello se evaluó la CSM de 14 ratas macho sexualmente expertos, en pruebas de 30 min realizadas, primero en una AT y, una semana después, en una ASMP. En dichas pruebas se registraron tanto los parámetros de la conducta sexual que permiten evaluar el componente motivacional como son: las Latencias de Monta (LM) y de Intromisión (LI), el Periodo Refractario Post-eyaculatorio (PRPE), el Intervalo Inter-Intromisión (III), y el Intervalo Inter-Copulatorio (IIC), como los parámetros que permiten evaluar el componente ejecutorio como son: la Latencia de Eyacuación (LE), el Número de Montas (NM) y Número de Intromisiones (NI), que preceden a la eyacuación. Encontramos que cuando a la rata macho se le aparea simultáneamente en una ASMP con 4 HREC, se incrementa su motivación, ya que se redujo significativamente el PRPE y el III, en comparación con los valores obtenidos cuando se le apareó con una HREC en una AT. Estos factores, aunados a la reducción significativa de la LE durante la tercera serie copulatoria, en condiciones de la ASMP, dio como resultado un incremento significativo de la frecuencia eyaculatoria (FE), en comparación con la obtenido en la AT.

Por otro lado, se ha propuesto que la rata es un animal promiscuo, ya que en condiciones naturales y semi-naturales, hembras y machos suelen intercambiar parejas mientras se aparean. Sin embargo, nuestro grupo de trabajo ha reportado en ratas que, en

condiciones de laboratorio, la HREC muestra preferencia por el macho que visita primero, cuando se le aparea en una ASMP cuatro machos sexualmente expertos (MSE), ya que permanece e interactúa sexualmente más con él, que con los otros 3 machos. Además, en estas condiciones, los machos reducen el número de intromisiones que preceden a la eyaculación, así como la latencia de eyaculación. Estos antecedentes sugieren que la rata macho, también podría preferir a una hembra en particular, si se le apareara con 4 HREC en una ASMP. Por tal motivo, el segundo objetivo de este estudio fue, analizar la selección de pareja de la rata macho en la ASMP y determinar el papel que podrían desempeñar en dicha selección, las características de la hembra, como son: su atractividad (olor) y las conductas para-copulatorias que despliega (saltitos, carreritas, orejeos y lordosis). Para este fin, los 14 machos empleados en la evaluación de la conducta sexual, se dividieron en 2 grupos de 7 ratas. Cada grupo de machos, fue sometido primero, a una prueba olfatoria de 5 min. durante la cual se cuantificó el tiempo que permanecieron frente a 6 cajas de Petri que contenían el aserrín proveniente de las jaulas de 6 HREC. Cada caja se colocó detrás de las puertas de acceso de los 6 redondeles que conformaron la ASMP, cuyas puertas fueron cerradas con una malla de alambre. De estas 6 hembras se seleccionaron 4: las dos con las que el macho permaneció más tiempo y las dos con las que permaneció menos tiempo. Al final de esta prueba, se quitaron las mallas de alambre de las puertas de acceso y se remplazaron las cajas que contenían el aserrín, por las respectivas hembras de las que procedió dicho aserrín. Durante 30 minutos, se registró el orden, el tiempo de permanencia y la frecuencia de visitas que realizaron los machos de cada grupo, a cada una de las 4 hembras. Asimismo, se registró el número de intromisiones y eyaculaciones que recibió cada una de las 4 hembras, así como la frecuencia de saltitos, carreritas, orejeos y lordosis que realizaron cuando fueron visitadas por los machos. En las condiciones de la ASMP, los machos prefirieron significativamente más a la hembra que visitaron primero que a las hembras restantes, ya que con ella permanecieron más tiempo, la visitaron más, además de que la intromitieron y la eyacularon más. Al permanecer más tiempo con ellas, las hembras visitadas primero fueron las que desplegaron significativamente más conductas de lordosis, orejeos, saltitos y carreritas, aunque ninguna de estas conductas fue importante en la selección del macho por esta hembra. Tampoco fue importante el olor en esta selección, ya que las hembras que fueron visitadas primero, no obtuvieron el mayor tiempo de permanencia en la prueba olfatoria previa. Asimismo, no pudimos demostrar que varios

machos de un mismo grupo, prefirieran a una misma hembra. En cambio, observamos que la hembra preferida (visitada primero), fue la hembra que recibió las dos primeras eyaculaciones, lo que sugiere que el efecto gratificante que tienen las eyaculaciones, podrían haber tenido un efecto reforzante para que ocurriera esta selección.

2. SUMMARY

Under laboratory conditions male sexual behavior usually is analyzed using a standard arena (SA), consisting of a rectangular or cylindrical chamber, in which a male rat is paired with a receptive female (RECF). However in previous studies, it has been shown that sexual behavior in rat can be modified when is mated with more than one partner. Such is the case of the Multiple Partner Choice Arena (MPCA), developed by Dr. Ferreira and co-workers, consisting of four acrylic cylinders arranged in a circle, with a hole or entrance at its base, which allows the experimental subject placed in the central compartment of the arena, to mate simultaneously with four partners (one partner for chamber). Then in this study we analyzed which parameters of the male sexual behavior change when one male rat is mated simultaneously with four RECF in the MPCA, in comparison with the results obtained when the same male is mated with one RECF in the SA. To this goal, the copulatory behavior of 14 sexually expert male rats were tested first in the SA and one week later, in the MPCA. We registered the sexual parameters related with the appetitive mechanism, such as Mount and Intromission Latencies (LM and LI respectively), the Post-Ejaculatory Refractory Period (PERP), the Inter-Intromission Interval (III) and Inter Copulatory Interval (ICI), as well as those parameters related with the consummatory mechanism such as: Ejaculatory Latency (EL), the number of Mounts (NM) and number Intromissions (NI) preceding ejaculation. We found that when the male rat is mated simultaneously with 4 RECF in the MPCA, sexual motivation increases, since a significant reduction of the PRPE and III was obtained compared with the values registered when it was mated with one RECF in the SA. These factors, as well as the significant reduction obtained in the EL during the third copulatory serie in the MPCA condition, resulted in a significant increase in the ejaculatory frequency (EF) compared with the obtained when they were tested in the SA.

Furthermore, it has been proposed that the rat is a promiscuous animal, as in natural and semi-natural conditions, females and males often exchange partners while mating. However, our group has been observed under laboratory conditions, that RECF shows preference for the male visited first, when she is mated in the MPCA with four sexually expert males, since it remains and sexually interacts more with him than with the other 3 males. Moreover, in these conditions, males reduce the number of intromissions preceding ejaculation and ejaculation latency. These facts suggest that male rat, could also prefer a

particular female if it is mated with 4 RECF in the MPCA. Therefore, the second objective of this study was to analyze the mate choice of the male rat in the ASMP and determine the role they could play in this selection, female characteristics such as attractiveness (odor) and paracopulatory behaviors that displays (hopping, darting, ear wiggling and lordosis). Then, those 14 male used in the assessment of sexual behavior, were divided into 2 groups of seven rats. Each group of males was first submitted to a 5 min olfactory test, during which the time spent by the experimental male in front of six Petri dishes containing sawdust from 6 RECF cages, were registered. Each Petri dish was placed behind the entrance of the six cylinders that made up the MPCA, whose entrance were closed with a wire mesh. From these six Petri dishes from the females, we selected four: two which males spend more time sniffing and two with which they remained less time. At the end of this test, the wire mesh in front the access doors were removed and the Petri dishes containing sawdust, were replaced by the respective females in which sawdust proceeded. During a 30 min test, the order, time spent and frequency of visits made by males of each group, to the four females were recorded. Also the number of intromissions and ejaculations that each female received as well as the frequency hopping, darting, ear wiggling and lordosis behaviors made by the females when they were visited by the males were obtained. Under the conditions of the MPCA, males significantly preferred the female who visited first in comparison with the remaining females, because with it they spent longer time, visited more frequently and received more intromissions and ejaculations by the male. As the male stay longer with them, females that were first visited significantly display more female paracopulatory behaviors (hopping, darting, ear wiggling and lordosis), although none of these behaviors was important for the male mate choice. Also the female attractivity (odor) had importance in this selection because females that were visited first, did not get the longer spent time by the males during the previous olfactory test. IN this study we could not demonstrate that several males of the same group, prefer to the same female. Instead, we observed that the preferred female (visited first) was the female who received the first two ejaculations, suggesting that the rewarding effect of the ejaculations, could have had a reinforcing effect in this mate choice.

3. INTRODUCCIÓN

4. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA

4.1 Patrones conductuales

La conducta sexual de la rata macho (CSM) consiste en una serie de patrones estereotipados fácilmente identificables (Portillo y Paredes, 1998) y han sido ampliamente descritos (Agmo, 1999; Meisel y Sachs, 1994). La CSM puede dividirse en tres fases: a) la precopulatoria, que incluye el olfateo, exploración genital, el aseo y la persecución del compañero. Durante esta etapa la hembra despliega patrones de proceptividad, tales como saltitos, movimientos de las orejas y el desplazamiento en zig-zag (Beach, 1976; Hlinak, 1983, 1986); b) la copulatoria, que se caracteriza por una serie de montas e intromisiones, que ocurren cada 30 a 120 segundos y que generalmente concluyen con la eyaculación; y c) la posteyaculatoria, en la que el macho presenta un periodo de inactividad sexual o periodo refractario post-eyaculatorio, durante el cual no responde a la estimulación sexual de la hembra y lleva a cabo el acicalamiento de sus genitales. Este periodo suele durar entre cuatro y ocho minutos, aunque normalmente se va incrementando durante las series copulatorias subsecuentes (Meisel y Sachs, 1994; Agmo, 1997).

Para la observación de la CSM en condiciones de laboratorio, el macho suele ser apareado en una arena estándar (Beach y Ransom, 1967), constituida por una cámara rectangular o cilíndrica de acrílico transparente (50 de diámetro X 40 cm de altura) con una hembra a la cual se le induce receptividad sexual con la administración secuencial de estradiol y progesterona. La hembra receptiva, ante la palpación de sus flancos por el macho, responde con un reflejo denominado *lordosis* que consiste en el arqueamiento del dorso, la elevación de la cadera y zona perineal, acompañada por el movimiento lateral de la cola, para facilitar la inserción del pene en la vagina (Meisel y Sachs, 1994; Agmo, 1997).

Luego de explorar a la hembra mediante el olfato, la rata macho se aproxima a ella por la grupa para desplegar el patrón de monta, que se caracteriza por la ejecución de movimientos pélvicos, al tiempo que la sujeta con sus patas delanteras los flancos de la hembra, pero sin introducir el pene en la vagina (Meisel y Sachs, 1994; Agmo, 1997). Los rápidos movimientos pélvicos anteroposteriores del macho que ejecuta durante la monta,

llegan a tener una duración de 0.383 s (Moralí et al., 1985). En cambio, durante la intromisión, o monta con inserción vaginal del pene, el macho realiza, luego de una serie de movimientos pélvicos, un movimiento aún más profundo hacia adelante, seguido de una brusca desmonta de la hembra, luego de la cual el macho generalmente se acicala sus genitales. Durante la intromisión, o monta con inserción vaginal del pene, el macho realiza movimientos pélvicos rítmicos que duran 0.320 s, con una frecuencia de 20 a 22 Hz (Moralí, et al., 1985). En general, el macho no vuelve a montar a la hembra inmediatamente después de una intromisión. Estos signos permiten distinguir las intromisiones de las montas (Ferreira Nuño, 2002). Comúnmente, el macho consigue la penetración vaginal en el 50 a 80 % de las montas (Agmo, 1997, Meisel y Sachs, 1994). Por su parte, el patrón eyaculatorio, consiste en una monta con inserción vaginal que se caracteriza por una serie de movimientos pélvicos aún más profundos y espasmódicos que en la intromisión, durante los cuales suele ocurrir la emisión del semen dentro de la vagina y concluye con un movimiento pélvico hacia adelante más profundo que dura de 1 a 3 s, seguido del movimiento lateral de sus patas delanteras y una desmonta lenta (Meisel y Sachs, 1994; Agmo, 1997).

El patrón de eyaculación ocurre normalmente después de seis a doce intromisiones y es seguido por un periodo de inactividad sexual llamado periodo refractario post-eyaculatorio o intervalo post-eyaculatorio, durante el cual el macho no responde a la estimulación sexual de la hembra. Este periodo suele durar de cuatro a ocho minutos, aunque normalmente se va incrementando con las series subsecuentes (Agmo, 1997; Meisel y Sachs, 1994; Ferreira Nuño et al., 2002).

A la serie de eventos copulatorios que van desde que el macho inicia la primera monta hasta que ocurre la eyaculación, se le denomina *serie eyaculatoria*. También existe la *serie copulatoria* que se diferencia de la serie eyaculatoria porque abarca, además, el periodo refractario post-eyaculatorio hasta la siguiente intromisión (Ferreira Nuño, et al., 2002). Esta serie de eventos se muestran en la Figura 1.

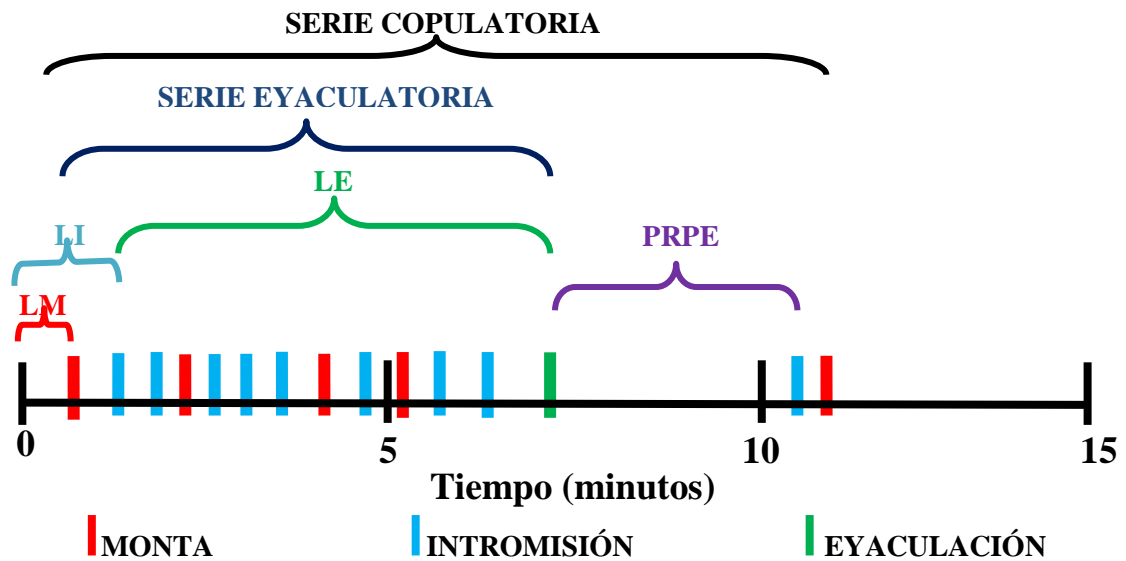


Figura 1. Gráfica que muestra el patrón copulatorio de la rata macho con los diferentes parámetros de la CSM que ocurren en una serie copulatoria. Abreviaturas: LM = Latencia de Monta, LI = Latencia de Intromisión, LE = Latencia de Eyacuación y PRPE = Periodo Refractario Post-eyaculatorio (Cruz Benites, 2016).

4.2 Parámetros conductuales

De acuerdo con Agmo (1997); Meisel y Sachs (1994); Ferreira-Nuño et al. (2010), los parámetros que se evalúan durante el registro de la CSM de la rata macho son los siguientes:

- **Latencia de monta (LM).** Es el periodo que transcurre desde que se introduce a la hembra con el macho en la arena de registro, hasta que ocurre la primera monta.
- **Latencia de intromisión (LI).** Es el periodo que transcurre desde que se introduce a la hembra con el macho, hasta que ocurre la primera intromisión.
- **Número de Montas (NM).** Es el número de montas que preceden a cada eyacuación.
- **Número de Intromisiones (NI).** Es el número de intromisiones que preceden a cada eyacuación.
- **Latencia de eyacuación (LE).** Es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta que ocurre la eyacuación.

- **Intervalo Post-eyaculatorio (IPE) o Periodo Refractario Post-eyaculatorio (PRPE).** Es el tiempo que transcurre entre la eyaculación y la intromisión de la siguiente serie eyaculatoria.

- **Frecuencia Eyaculatoria (FE).** Es el número de eyaculaciones que ocurren durante un tiempo determinado de registro de la CSM.

Una vez que concluye el registro de la CSM, se pueden calcular los siguientes **Índices**:

- **Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SEy).** Este porcentaje se calcula para toda la sesión de registro. De manera semejante se puede calcular el porcentaje de machos sexualmente activos (%SsA), para distinguir a los machos que copulan de los que no lo hacen, o bien evaluar a los machos que montaron (%SM) o intromitieron (%SI) en cada serie eyaculatoria.
- **Tasa de Aciertos (TA),** también llamado Hit Rate o índice de eficiencia copulatoria, se refiere al NI dividido entre el NI más el NM que se presentan antes de la eyaculación. Este parámetro alcanza el valor máximo de 1, cuando el macho sólo realiza intromisiones, lo que indica que la eficiencia copulatoria fue del 100%. Este parámetro es muy útil para evaluar tratamientos que afectan la sensibilidad peneana o la erección (Agmo, 1997).
- **Intervalo Inter-Intromisión Promedio (III)** o también llamado tasa de intromisiones, es el intervalo que hay entre cada intromisión en una serie eyaculatoria. Se calcula dividiendo la LE entre el NI. La reducción del III puede indicar, de manera indirecta, que el macho está más motivado sexualmente por aparearse con la hembra (Sachs y Barfield, 1970; Agmo, 1997).
- **Intervalo Inter-Copulatorio (IIC).** Es el intervalo de tiempo que hay entre cada monta o intromisión y se calcula dividiendo la LE entre la suma del NM y el NI. Este parámetro, indica qué tan espaciadas ocurrieron las montas e intromisiones que precedieron a la eyaculación (Sachs y Barfield, 1970).
- **Umbral eyaculatorio.** Britan y Hull, (1987) y Waldinger, (2003), lo definen como el NI que preceden a la eyaculación y/o el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta que ocurre la eyaculación (LE).

- **Potencial copulatorio.** Es el número de eyaculaciones que ocurre antes de que el macho deje de copular con una misma rata o con diferentes, ya sea por saciedad o por extenuación sexual. La extenuación no es lo mismo que la saciedad sexual ya que en la extenuación es el cansancio y la falta de erección o impotencia lo que le impide al macho seguir copulando, mientras que la saciedad, es la falta de deseo sexual lo que hace que un macho deje de copular, pero no es por un problema de erección, sino de motivación. Por eso si se le cambia a la hembra a un macho saciado sexualmente este puede seguir copulando (efecto Coolidge) (Meisel y Sachs, 1994).

4.3 Componentes de la conducta sexual masculina

En 1967 Beach propuso que en la regulación de la CSM existe un mecanismo nervioso dual: al primer mecanismo lo llamó Apetitivo o Motivacional y comprende la motivación necesaria para el inicio y continuidad de la conducta sexual, mientras que el segundo mecanismo, denominado Ejecutorio o Consumatorio, comprende los factores que determinan la ejecución de la cópula, a través de los patrones de monta, intromisión y eyaculación (Beach, 1967; Cummings y Backer, 2012). De acuerdo con Beach, la activación del segundo es controlada por el primero (Beach, 1967).

Posteriormente, Beyer (1976), propuso la existencia de un tercer mecanismo modulador de la CSM, que comprende mecanismos nerviosos inhibitorios que pueden determinar la interrupción de la CSM, si las condiciones medioambientales ponen en riesgo la vida del animal o hacen inapropiada la actividad sexual. Cabe señalar que Beyer no contempló en este mecanismo modulador, mecanismos nerviosos que también podrían estimular la CSM.

De acuerdo con lo anterior, se ha propuesto que los parámetros que permiten evaluar el componente motivacional del macho son: la III, la LI, PRPE, IIC y la LM, ya que demuestran el interés que tiene el macho por buscar el contacto sexual con la hembra (Meisel y Sachs, 1994). Sin embargo, la LI y el III no deberían ser tomados en cuenta para evaluar la motivación, ya que pueden ser influidos por la receptividad de la hembra, la cual, si no es adecuada, puede prolongar los valores de estos parámetros (Meisel y Sachs,

1994). También se debe de considerar que el III requiere del componente ejecutorio, además del motivacional, ya que depende de que el macho pueda intromitir. Asimismo, si el macho tiene un problema que impide la erección peneana, estos parámetros pueden prolongarse a pesar de la motivación sexual que tenga el macho, con excepción de la LM.

Por otra parte, los parámetros que permiten valorar la capacidad ejecutoria del macho son el NM, el NI, así como el %SM y el % SI (Meisel y Sachs, 1994). No obstante, el incremento en el NM puede ser resultado de: a) una mayor motivación sexual del macho, b) una reducción en la sensibilidad peneana o de erección, c) una reducción en la receptividad de la hembra, d) la inexperiencia del macho y e) la combinación de estos factores (Meisel y Sachs, 1994). Asimismo, en la medida que un macho requiera de menos intromisiones y tiempo para eyacular, se considera que su desempeño sexual es mejor ya que demuestra tener un menor umbral eyaculatorio, aunque también puede reflejar semejanza a un problema de eyaculación precoz (Olivier et al., 2006).

5. CONDUCTA SEXUAL FEMENINA DE LA RATA

5.1 Patrones conductuales

Durante la fase de estro, la rata hembra despliega su postura de receptividad, la lordosis, así como un variado y complejo patrón de conductas de solicitud que desencadenan el patrón de monta del macho (Beach, 1976; Madlafousek, et al., 1976; Madlafousek, et al., 1977; McClintock y Adler, 1978). Las conductas "precopulatorias" o "proceptivas" exhibidas por las ratas hembras sexualmente receptivas son: los saltitos (hopping), las carreritas (darting) y el movimiento de las orejas (ear wiggling) (Beach, 1976; Madlafousek y Hlinak, 1977; Erskine, 1989). Dichas conductas se han observado de forma fiable durante las pruebas estándar de conducta sexual femenina en condiciones de laboratorio. Sin embargo, observaciones importantes de la conducta sexual femenina, en condiciones seminaturales (McClintock y Adler, 1978; McClintock y Anisko, 1982 a, b; Chu y Agmo, 2015; Chu et al. 2015) y en condiciones de laboratorio (Bermant, 1961; Krieger, et al., 1976; Peirce y Nuttall, 1961), han demostrado que la hembra participa de manera fundamental en el patrón de apareamiento de esta especie, mediante el despliegue alterno y periódico de estas conductas proceptivas. Estas observaciones, se suman a las evidencias que demuestran que son necesarios cambios neuroendocrinos dependientes de

los estímulos recibidos durante la cópula, para que se inicie la gestación (Alder, 1983; Winland, et al., 2012). De ahí que se haya sugerido que las conductas proceptivas tienen importancia en el éxito reproductivo de la rata (Erskine, 1989).

5.2 COMPONENTES DE LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA

5.2.1 Atractividad

Un tercer componente de la conducta sexual femenina es la *Atractividad*. Beach en (1976) la define como la atención que los machos demuestran por una hembra, en comparación con otras de su misma especie. De tal forma que la atractividad sexual de las hembras representa el estímulo que produce respuestas apetitivas por parte de los machos (Beach, 1976).

Los estímulos olfativos femeninos son atractivos potentes, ya que las ratas machos se acercan al olor de las hembras sexualmente receptivas (Snoeren et al., 2014 b). Además, los machos sexualmente vírgenes muestran preferencias por hembras receptivas, sobre las hembras no receptivas, debido a sus olores sexuales (Portillo y Paredes, 2004). Por otro lado, ratas macho con anosmia, no distinguen de inmediato entre las hembras receptivas y las no receptivas y muestran una reducción en la investigación social (Portillo y Paredes, 2004).

Muchas especies de mamíferos, tanto machos como hembras sexualmente activos, emiten muchos tipos de estímulos que afectan varias modalidades sensoriales para atraer o alejar al sexo opuesto. Numerosos estudios han demostrado que las señales olfativas están involucradas en la selección apropiada de la pareja sexual en los hurones, hámsteres, ratones, ratas y otras especies de mamíferos (Kelliher y Baum, 2001; Portillo y Paredes, 2004), por lo que liberan en su entorno una amplia variedad de olores volátiles y no volátiles a través de glándulas y microorganismos de la piel, así como a través de productos de excreción, tales como la orina y las heces (Brown, 1979; Vandenberg, 1994). Estos olores socialmente relevantes también se conocen como **feromonas** y han sido definidas como “sustancias que son secretadas hacia el exterior por un individuo, para provocar en otro, reacciones específicas tales como un comportamiento, un proceso de desarrollo o un cambio fisiológico (Meredith, 2001).

En especies nocturnas, como algunos roedores, las feromonas pueden ser particularmente importantes para identificar la presencia de un compañero en la oscuridad (Bakker, 2003). Como resultado, la agudeza olfativa de ratones y ratas les permite discriminar entre los olores urinarios de cepas que difieren sólo en los genes individuales, mediante el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), altamente polimórficos. Este es una familia de aproximadamente 50 genes mejor conocidos por su papel específico en el reconocimiento célula- célula (Yamazaki, et al., 1976; Singh, et al., 1987). Sin embargo, la importancia de los olores para el reconocimiento del compañero no se limita sólo a las especies de roedores nocturnos (Kelliher y Baum, 2001).

Otro componente atractivo a distancia pueden ser los estímulos auditivos. Las ratas emiten vocalizaciones ultrasónicas 50 kHz en presencia de un compañero sexual y durante la cópula (Barfield y Thomas, 1986; Bialy et al., 2000; Brudzynski, 2005, Snoeren y Agmo, 2013, 2014 a). Algunos de ellos sirven para alejar a la hembra durante el periodo refractario post-eyaculatorio.

5.2.2 Proceptividad

El estudio experimental de la conducta proceptiva en la rata, es complicado debido a la diversidad de patrones desplegados por la hembra en estro. De acuerdo con la clasificación de Madlafousek y Hlinak (1977), las conductas proceptivas espontáneas de solicitud que despliega la rata hembra en estro, durante el curso típico de la cópula incluyen los siguientes tres elementos. El comportamiento de **saltitos**, que consiste en un salto corto con el aterrizaje en las cuatro patas, seguidas por una postura agachada, en el que la rata hembra se prepara para aceptar la monta del macho. El comportamiento de **carreritas**, que consiste en una carrera desplegada en varios pasos o etapas, que termina abruptamente con la adopción de la posición en cuclillas. El reflejo de **movimientos de orejas**, que consiste en la vibración de las orejas rápidamente, generalmente acompañada por el levantamiento de la cabeza (Beach, 1976; Madlafousek y Hlinak, 1977; Erskine, 1989) y la presentación de la lordosis (Emery y Moss, 1984).

Los comportamientos de **proceptividad** pueden definirse como aquellas conductas típicas de cada especie, mostradas por la hembra sexualmente receptiva, que estimulan el apareamiento del macho y regulan el patrón de la cópula. En la rata hembra, estos

comportamientos son señal de su disponibilidad a aparearse y se producen inmediatamente antes y durante el curso de la cópula (Erskine, 1989). Beach define a la proceptividad como aquellos comportamientos que determinan el impulso de la hembra en las interacciones sexuales con el macho (Beach, 1976). Algo comprendido en esta definición es que la proceptividad de alguna manera refleja el aspecto apetitivo de la conducta sexual femenina. Por lo tanto, los comportamientos tales como los saltitos, carreritas, y movimiento de orejas, se han utilizado como un índice de la motivación sexual femenina en la rata, al igual que otros patrones de comportamiento, tales como el interés por aproximarse a un macho sexualmente activo (Clark, et al., 1981; Meyerson y Lindstrom, 1973; Pfeifle y Edwards, 1983), acceso a la cámara donde se encuentra el macho mediante la activación de una palanca (Bermant, 1961; French, et al., 1972) o mediante el cruce de una rejilla electrificada (Meyerson y Lindstrom, 1973), así como la preferencia por el contacto con los machos sexualmente activos, en lugar de escoger otros animales estímulo, ej.: machos castrados o inexpertos (Pfeifle y Edwards, 1983), o el despliegue de comportamientos de resistencia o rechazo (patadas, mordidas), como una índice de baja motivación sexual (Hardy y DeBold, 1971). Estos parámetros conductuales se han utilizado en las pruebas que evalúan la “motivación femenina”, donde la hembra es quien inicia la interrelación sexual con el macho, al acercársele, investigarlo, y realizar la primera señal de solicitud sexual (Erskine, 1989). Los comportamientos proceptivos, además de indicar la actitud sexual de la hembra, forman parte del patrón de estimulación coital, junto con los patrones de la conducta sexual masculina (monta, intromisión y eyaculación) (Bermant, 1961; Gilman y Hitt, 1978; Krieger et al., 1976; Peirce y Nuttall, 1961; Erskine, 1989). Además, la expresión de las conductas proceptivas, también dependen de la intensidad de la estimulación coital que reciba del macho, inmediatamente antes de la conducta de solicitud (Bermant, 1961; Erskine, 1985).

5.2.3 Receptividad

El comportamiento receptivo se define por la postura de lordosis, que es la flexión dorsal de la columna vertebral de la hembra, en respuesta a la monta del macho (Beach, 1976; Pfaus et al., 2003). La postura de lordosis facilita la penetración del pene y refleja la disponibilidad de la hembra para participar en la cópula. La **Receptividad** de las ratas hembra con frecuencia se cuantifica por medio del *Cociente de Lordosis* (LQ), que es el

número de lordosis desplegadas divididas entre 10 montas realizadas por el macho, multiplicadas por 100 (Beach, 1943; García-Juárez, et al., 2013). Esta medida es adecuada para aquellas especies en las que la eyaculación está precedida por varias montas y diferentes patrones coitales (Erskine, 1989). Hardy y DeBold, (1971), califican cada lordosis empleando la siguiente escala de 3 puntos:

1 punto = lordosis marginal (ligera flexión de la columna vertebral, la cabeza ligeramente elevada y las caderas con base de la cola elevado desde el suelo).

2 puntos = lordosis normal (flexionar la columna vertebral, la cabeza en un ángulo aproximado de 30° con las patas delanteras horizontales, colocadas ligeramente hacia adelante y las patas traseras levantadas con rigidez).

3 puntos = lordosis exagerada (flexión espinal pronunciada, la cabeza en un ángulo de 45° o más con la horizontal).

6. PREFERENCIA SEXUAL DE PAREJA EN LA RATA

La *Preferencia Sexual de Pareja* se puede definir, como la preferencia que muestra un animal, para interactuar sexualmente y permanecer más tiempo con un sujeto estímulo que con otro de la misma especie, cuando se les da a elegir entre dos animales de diferente sexo; por ejemplo: una hembra sexualmente receptiva y un macho sexualmente activo (Bakker, et al., 1993).

La diferenciación sexual del cerebro está relacionada con el comportamiento de apareamiento. La diferenciación sexual del cerebro de rata está orquestada por los esteroides gonadales durante un período perinatal crítico y da como resultado cambios permanentes en los sustratos neurales sensibles a las hormonas en la etapa adulta (Bakker, et al., 1996). En ratas, este periodo crítico, es el momento en el que el animal es más susceptible al mecanismo de organización de los esteroides sobre el tejido neural, comprende aproximadamente desde el día 14 de vida prenatal al día 10 de vida postnatal. Prenatalmente, hay un aumento de la testosterona (T) en los días 18 y 19 (Henley, et al., 2011). Después del nacimiento, a las 2 horas hay otro aumento de la testosterona en suero de crías macho, y estas concentraciones descienden aproximadamente 6 horas después

(Bakker, et al., 1996). El metabolito estrogénico de la testosterona, el estradiol (E₂), está implicado, en los procesos de masculinización y desfeminización de la conducta sexual masculina (Baum, 1979).

Estos efectos se reflejan en la preferencia sexual en la rata macho y también en la organización de la conducta de preferencia sexual de pareja en la rata (Bakker, et al., 1993; Brand, et al., 1991 a). El comportamiento sexual masculino depende en gran medida de la T y sus metabolitos. La T es secretada por las células de Leydig de los testículos y alcanza sus órganos blancos a través del torrente sanguíneo. En la mayoría de los mamíferos, el despliegue de la conducta sexual en los machos es promovido mediante la circulación de T y/o sus metabolitos, el estradiol y la dihidrotestosterona. El aumento en la producción de T en la pubertad es esencial para el despliegue de la actividad sexual de los machos, por lo tanto en ausencia de la fuente de T por la castración quirúrgica, el deseo sexual y la actividad sexual suelen disminuir (Meisel y Sachs, 1994). Los efectos estimulantes de T sobre el comportamiento sexual de los machos adultos se denominan efectos activacionales, para distinguirlo de los efectos organizacionales de T durante la diferenciación sexual cerebral (Meisel y Sachs, 1994).

De tal manera, que la exposición al E₂ endógeno metabolito de T, en el cerebro de la rata masculiniza y desfeminiza los sustratos neurales que controlan la secreción de gonadotrofinas y el comportamiento sexual durante la edad adulta (Beatty, 1992; Brand y Slob, 1991; Goy y McEwen, 1980). En la rata, el resultado de la masculinización de su comportamiento se manifiesta mediante la expresión de los patrones de la conducta sexual típica del macho en la edad adulta (montas, intromisiones y eyaculaciones). En cambio, la desfeminización, se manifiesta a través de la pérdida de la liberación cíclica de gonadotrofinas, necesarias para la ovulación en la hembra, así como la ausencia de la expresión de las conductas sexuales típicamente femeninas (p. ej.: los comportamientos proceptivos y receptivos; Bakker, et al., 1996; Henley et al., 2011). Por lo tanto, las ratas macho gonadalmente intactas, muestran el patrón completo de la conducta sexual masculina en la edad adulta, sin expresar la conducta sexual femenina. No sólo la cópula, sino también los aspectos motivacionales del comportamiento sexual, se diferencian sexualmente bajo la influencia de los andrógenos durante el desarrollo temprano (Bakker, et al., 1996; Adkins-Regan, 1998; Henley et al., 2011). Así en la edad adulta, los machos

gonadalmente intactos prefieren a hembras sexualmente receptivas sobre los machos. Mientras que las hembras gonadalmente intactas prefieren machos sexualmente expertos sobre las hembras (Bakker, et al., 1996; Adkins-Regan, 1998; Henley et al., 2011).

Desde una perspectiva próxima, la hipótesis organizacional/activacional de las hormonas gonadales es el marco teórico clave para interpretar el desarrollo de la conducta sexual (Phoenix, et al., 1959). De acuerdo con esta hipótesis planteada por Phoenix, et al. 1959, existe un período crítico sensible en la vida perinatal, durante el cual la exposición a los andrógenos y sus metabolitos estrogénicos, o la falta de exposición a estos, organiza diferencialmente el circuito neural que subyace al comportamiento de machos y hembras. La exposición a las hormonas esteroides sexuales en la pubertad, activan los circuitos neuronales de machos y hembras que fueron organizados en la etapa perinatal de manera diferencial. Esto, a su vez, da lugar a la expresión del dimorfismo sexual y a la preferencia de pareja sexual. Con esta perspectiva, se ha sugerido que la exposición perinatal a los andrógenos y sus metabolitos estrogénicos "masculiniza" y "desfeminiza" ciertas áreas del cerebro (área preóptica paraventricular, área preóptica media del hipotálamo, núcleo de la cama de la estria terminal, núcleo ventromedial del hipotálamo) que controlan la preferencia de pareja sexual (Bakker, et al 1993). Esto, a su vez, aumenta la probabilidad de que los machos prefieran parejas sexuales femeninas en la edad adulta, al tiempo que rechazan las masculinas (Vasey, 2002). Por el contrario, la falta de exposición perinatal a los andrógenos y sus metabolitos estrogénicos "feminiza" y "demasculiniza" áreas del cerebro femenino (Núcleo ventromedial del hipotálamo, Septum lateral y área preóptica medial) que regulan la preferencia de pareja sexual.

De esta forma se incrementa la probabilidad de que las hembras prefieran parejas masculinas en la edad adulta, al tiempo que rechazan las femeninas (Adkins-Regan 1988,1998; Adkins-Regan et al., 1997 y Vasey, 2002).

7. SELECCIÓN DE PAREJA

A diferencia de la preferencia sexual de pareja en la que los individuos seleccionan a su pareja por el sexo, la *Selección o Elección de Pareja*, se considera como una selección pre-copulatoria (Andersson y Simmons, 2006) y comprende la competencia entre

individuos del mismo sexo (generalmente entre machos), para tener acceso al sexo opuesto (competencia intrasexual; Darwin, 1871). Asimismo, la selección de pareja favorece determinados atributos de un sexo para atraer al sexo opuesto. De acuerdo con Darwin (1871) la elección de la pareja sexual se basaría en estos atributos (selección intersexual).

La elección de pareja comúnmente genera la competencia entre los machos por tener acceso a un con-específico y / o bien determina la selectividad femenina de la pareja para el apareamiento (Andersson, 1994). El resultado de numerosos estudios en aves y peces sugiere que las hembras tienden a preferir a los machos que han visto copular con otras hembras (Galef, et al., 2008). La diferencia en la tasa de fecundidad de ambos sexos, pueden contribuir a las dos formas más comunes en que suele ocurrir la elección de pareja (Andersson e Iwasa, 1996) Por ejemplo, en la mayoría de mamíferos, los machos son capaces de engendrar muchos hijos en su vida, mientras que las hembras producen menos crías que los machos porque invierten más tiempo en cuidarlas y alimentarlas (Clutton-Brock y Vincent, 1991). Este patrón se observó en más de 95% de las especies de mamíferos (Clutton-Brock, 1989). Sin embargo, los factores que influyen en la selección de pareja difieren entre las especies (Birkhead y Moller, 1998).

En su teoría de inversión parental Trivers (1972) plantea que existe una diferenciación sexual en los patrones de selección de pareja y competencia. En la mayoría de las especies, típicamente las hembras invierten más tiempo en el cuidado de las crías que los machos. Esto limita su potencial reproductivo, ya que en cualquier momento, hay menos hembras receptivas en la población que machos sexualmente activos. Así que teóricamente, los machos tienen que competir intrasexualmente por tener acceso a una hembra sexualmente receptiva. Las hembras por su parte, deben discriminar entre los machos potencialmente disponibles (selección intersexual), favoreciendo a aquellos que puedan contribuir más a la supervivencia y calidad de vida de las crías (Trivers, 1972). Si bien las hembras, son las que suelen escoger a los machos, existe la posibilidad de que los machos ***también puedan seleccionar o preferir a una hembra sobre otras disponibles.***

8. ANTECEDENTES

En diversas especies de mamíferos, en condiciones naturales, las hembras y los machos pueden aparearse con muchas parejas a la vez, dando lugar a los diferentes contextos copulatorios como la *poliginia* (cópula simultánea entre más de dos hembras con un macho) y la *poliandria* (cópula simultánea de dos machos o más con una hembra) (Calhoun, 1962). Los contextos copulatorios dependen de la densidad de la población y de la proporción de hembras y machos que la forman. Por ejemplo, en la rata noruega, cuando las hembras superan en número a los machos en edad reproductiva, entonces varias hembras pueden copular con un macho dando lugar a la poliginia (McClintock y Anisko 1982), mientras que cuando la proporción de machos es mayor, surge la poliandria. En ambos casos puede surgir la promiscuidad (hembras y machos se aparean simultáneamente con varias parejas). Por lo tanto, se considera que la rata es un animal promiscuo Endries y Adler, 2005.

Se ha demostrado que la conducta sexual de la rata hembra tiene una característica recompensante o reforzante, cuándo se les permite desplazarse en las proximidades del macho con el que se le está apareando, en lugar de hacerlo en una arena o compartimento cerrado (García-Horsman y Paredes, 2004; Martínez y Paredes, 2001; Paredes y Vázquez, 1999). En este sentido, se han utilizado varias metodologías para evaluar la capacidad de las ratas hembra para controlar su coacción sexual, tales como, el empleo de una palanca para tener acceso a un macho (Bermant, 1961; Bermant y Westbrook, 1966; Matthews et al., 1997; Peirce y Nuttall, 1961), el uso de una cámara de dos niveles, en la que sólo la hembra puede moverse entre los compartimentos (Agmo y Soria, 1997) y también cuando ambos pueden moverse entre los niveles (Pfaus et al., 1999), el apareamiento con un macho atado (Broekman et al., 1988; De Jonge y van de Poll, 1986; Edwards y Pfeifle, 1983), o bien mediante el empleo de cámaras en las que la hembra puede escapar del macho a través de un pequeño orificio de un tamaño tal que sólo ella puede atravesarlo por ser de menor tamaño (Blaustein y Erskine, 2002; Erskine, 1989; Erskine et al., 1989; Gans y Erskine, 2003; Paredes y Alonso, 1997).

Cabe señalar que en la mayoría de los estudios que se realizan para estudiar la conducta sexual de la rata, suelen hacerse utilizando solo un macho y una hembra en una Arena Típica (Beach y Ransom, 1967). Donde, en la mayor parte de los estudios con ratas

han sido diseñados para investigar la influencia de la hembra sobre la conducta sexual del macho. Cuando la pareja inicial ha sido retirada y devuelta o se ha sustituido por otra diferente, utilizando este mismo paradigma de la Arena Típica. Se ha demostrado que la tendencia de la rata macho para copular no depende exclusivamente de las propiedades de estímulo de la pareja femenina, si no también puede verse disminuida o reforzada por aspectos particulares de las diferentes condiciones ambientales (Beach, 1947).

En condiciones naturales, sin embargo, las hembras suelen aparearse en forma grupal con individuos del sexo opuesto y pueden recibir estimulación sexual de diferentes machos, antes de recibir una eyaculación (Calhoun, 1962; Robitaille y Bouvet, 1976). Observaciones similares se han descrito en los estudios en los que el comportamiento sexual de la hembra ha sido analizado en condiciones seminaturales (McClintock y Adler, 1978; McClintock et al., 1982 a y b; Chu, et al. 2015).

En el 2005 Ferreira Nuño et al., desarrollaron una **Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP, Fig. 2)**, formada por cuatro redondeles de acrílico, dispuestos en círculo, con un compartimento central en el que se coloca a la hembra. En cada redondel, se coloca a un macho sexualmente activo. Además, cada redondel cuenta con una pequeña compuerta de acceso en la parte inferior, por la cual sólo la hembra puede pasar, por ser más pequeña que el macho, lo que le permite elegir al macho con el que desea copular. Esta arena permitió demostrar que la rata hembra, cuando se le da la oportunidad de elegir entre cuatro machos sexualmente expertos, prefiere copular con uno de ellos, ya que permanece más tiempo y recibe más montas, intromisiones y eyaculaciones de él, que de los otros machos.

También se demostró que, cuando la hembra entra en una de las cámaras de los machos no preferidos, en cuanto se aproxima el macho, esta escapa para regresar a la cámara donde se encontraba el macho preferido (Ferreira-Nuño et al. 2005). Investigaciones más recientes (Lovell, et al. 2007; Winland et al., 2012 y Snoeren et al., 2014 b), concuerdan con los resultados de Ferreira Nuño et al., (2005), en que la hembra muestra preferencia por un macho, al permanecer mayor tiempo e interactuar sexualmente con él.

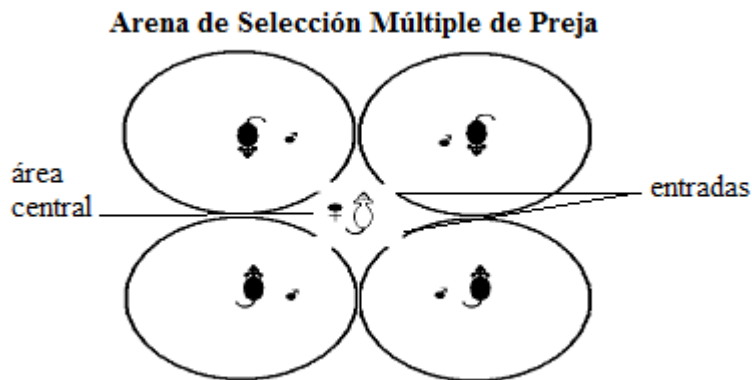


Figura 2. Esquema de la Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP), diseñada por Ferreira-Nuño et al., 2005, que consta de 4 redondeles de acrílico que contienen a un macho sexualmente experto y en su base, una pequeña puerta que le permite el acceso a la hembra.

Hasta la fecha, son pocos los estudios que se han realizado en la rata para evaluar la preferencia del macho por una hembra. Por ejemplo, McClintock et al. (1982 a), observaron, en condiciones seminaturales, que durante una sesión de cópula, en la que había varios machos y varias hembras en estro presentes, los machos eyacularon el doble de veces que cuando copularon con una sola hembra, lo que podría tener significado adaptativo mediante el aumento del éxito reproductivo.

Por otro lado, Ismail et al. (2009), han demostrado que el nivel de motivación sexual de la rata puede ser modulado por varios factores, entre los que destacan el ambiente en el cual copulan, esto se refiere a las características de la arena. En dicho estudio se observó que cuando las condiciones ambientales restringen el acceso a las hembras, se incrementa la motivación sexual, en la medida que aprenden a anticipar el futuro contacto copulatorio con las hembras. Estos investigadores primero aparearon a machos con hembras impregnadas con aroma de almendras o sin él, en arenas de cópula regulada que podían tener uno o cuatro agujeros de acceso. Las arenas de un agujero permiten que las hembras tarden más tiempo en regresar con los machos, lo que se denomina cópula regulada, que incrementa la motivación sexual del macho más que en las arenas de cuatro agujeros (Ismail, et al., 2009). Posteriormente, se realizó una prueba de preferencia pareja con cada macho, durante la cual se les dio la opción de copular, ya sea con una hembra conocida

(con la que se aparearon previamente) o con una hembra nueva, con olor a almendra o sin él. Los resultados mostraron que sólo los machos entrenados previamente para copular en la arena de un agujero, desarrollaron una preferencia eyaculatoria condicionada por la hembra “conocida” con olor a almendras. En cambio, cuando la hembra familiar no es impregnada con olor a almendras o cuando la hembra nueva es impregnada con ese olor, los machos entrenados en la arena de un agujero no muestran preferencia eyaculatoria condicionada. Lo anterior demuestra que los machos aprenden a asociar señales de recompensa con la preferencia sexual (Ismail et al., 2009).

Se desconocía si la rata macho, también era capaz de elegir a una hembra en particular, si se le da la oportunidad de aparearse de manera simultánea con varias hembras, como sucede con la rata hembra cuando copula en la ASMP, desarrollada en nuestro laboratorio (Ferreira-Nuño y cols. 2005). Snoeren et al. (2014 c) realizaron un estudio semejante al propuesto en el presente proyecto, en dicho trabajo se analizó la influencia de las vocalizaciones ultrasónicas y el olor de las hembras sobre la selección de pareja en la rata macho, para ello emplearon una ASMP, compuesta de 4 redondeles que en su base tuvieron una compuerta, uno de ellos tuvo un diámetro mayor con respecto a los demás, en este redondel se colocó al macho, y también se utilizó como área central. Las hembras se colocaron individualmente en cada uno de los 3 redondeles de diámetro menor, los cuales fueron colocados alrededor del redondel central, con las compuertas encontradas. En dicho estudio, el macho tuvo la oportunidad de copular simultáneamente con tres hembras sexualmente receptivas. En una primera prueba de 15 min, las hembras permanecieron inaccesibles a los machos por estar cerradas las compuertas de los redondeles con una malla de alambre, el objetivo de este estudio fue evaluar el papel de los olores femeninos, en la selección del macho para aparearse con una hembra en particular, en el cual evaluaron el número de olfateos que el macho realizó frente a la entrada de cada uno de los redondeles. Al finalizar esta prueba, se le permitió al macho durante 15 minutos el acceso a las hembras; en esta condición las compuertas de los cilindros se mantuvieron abiertas, para permitirle al macho interactuar y copular con las hembras. En esta prueba, se cuantificó el número de vocalizaciones ultrasónicas emitidas por las hembras para investigar su influencia en la elección de pareja. Snoeren et al., (2014 c) demostraron que la rata macho mostró una mayor preferencia por la hembra que fue visitada primero, ya que permaneció más tiempo con ella y fue la que recibió más intromisiones, pero no más

eyaculaciones. Tampoco encontraron una relación entre las vocalización ultrasónicas emitidas por las hembras y el orden en que fueron visitadas, así como una relación entre la hembra que fue visitada primero y la hembra que fue preferida por su olor en la prueba inicial. Ante estos resultados, propusieron que en la rata macho, ésta selección de pareja por la hembra visitada primero, podría ser azarosa (Snoeren et al., 2014 c). Cabe señalar que en dicho estudio, no se caracterizó la conducta sexual de la rata macho, ni se analizó si varios machos llegan a preferir a una misma hembra. Por lo tanto, en esta Tesis tuvimos como objetivo Caracterizar la Conducta Sexual Masculina de la rata macho en una ASMP, y evaluar sí la rata macho prefiere a una hembra sobre cuatro opciones.

9. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La conducta sexual de la rata macho se modifica, cuándo cópula de manera simultánea con cuatro hembras, en una Arena de Selección Múltiple de Pareja? Y, en estas condiciones, ¿Es posible que la rata macho muestre preferencia por una de las cuatro hembras con las que cópula?

10. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En condiciones naturales ratas hembra y macho copulan simultáneamente, de manera promiscua. Sin embargo, en condiciones de laboratorio, utilizando una ASMP, se ha reportado que la rata hembra, prefiere copular con el macho que visita primero. No obstante, se desconoce si en estas condiciones ocurre lo mismo con el macho. Debido a que son escasos los trabajos de investigación básica, en los que se ha analizado la conducta sexual masculina de la rata macho, mediante apareamientos simultáneos con varias hembras, es importante, caracterizar la CSM y la selección de pareja en la rata macho adulta, en una ASMP.

11. HIPÓTESIS

Si la rata macho, cópula con cuatro hembras simultáneamente, en una Arena de Selección Múltiple de Pareja, modificará algunos parámetros de su Conducta Sexual Masculina, en relación a los que presenta en una Arena Típica y manifestará preferencia por una hembra en particular.

12. OBJETIVOS

12.1 Objetivo General

Caracterizar la conducta sexual masculina y la selección de pareja de la rata macho adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja.

12.2 Objetivos particulares

1. Caracterizar la CSM de la rata macho adulta en una ASMP y compararla con la obtenida en una Arena Típica, para determinar que parámetros se modifican en estas condiciones.

2. Caracterizar la selección de pareja de la rata macho sexualmente experta en una ASMP.

3. Determinar si el orden de visita es importante en la selección de pareja de la rata macho.

4. Determinar la importancia del olor y de las conductas receptivas y proceptivas de las ratas hembra en la selección de pareja del macho.

5. Determinar si una hembra en particular es preferida por varias ratas machos.

13. MATERIALES Y MÉTODO

13.1 *Obtención y manejo de los animales*

Cincuenta ratas macho *Wistar* adultas, sexualmente inexpertas de aproximadamente 300 g y veinte ratas hembras de la misma cepa, de aproximadamente 200 g, se obtuvieron del Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana de la Unidad Iztapalapa. Las ratas fueron alojadas en jaulas jumbo (37 cm ancho x 48 cm de largo x 20 cm de alto) con ocho animales por sexo, con libre acceso al alimento (Harlan) y agua. Las ratas se mantuvieron en un ciclo de 12 h luz / 12 h oscuridad (la luz se encendió a las 20:00 horas) y con una temperatura controlada (21 ± 2 ° C). Todas las pruebas de conducta sexual se realizaron en un cuarto de observación de 4 X 4 m, con luz roja tenue y durante la fase de oscuridad del ciclo de luz.

Un mes antes de realizar los experimentos, las hembras fueron ovariectomizadas bilateralmente, a través de una incisión abdominal. Para realizar la cirugía, fueron anestesiadas, con una mezcla de ketamina (50 mg/ml) y clorhidrato de xilazina (4 mg/ml), en una proporción de 4:3, respectivamente, mediante una administración por vía intraperitoneal en un volumen de 1 ml/kg de peso corporal. A todas las hembras se les dio quince días de recuperación post-quirúrgica antes de los registros de conducta sexual. Para inducirles receptividad sexual, se les administró por vía s.c. de 10 µg de benzoato de estradiol (BE, Sigma-Aldrich) disuelto en 0.1 ml de aceite de girasol, 48 h antes de la prueba y 500 µg de progesterona (P₄, Sigma-Aldrich) en 0.1 ml de aceite de girasol, 4 h antes del registro de conducta.

13.2 *Evaluación de la Conducta Sexual Masculina de la Rata Macho en una Arena Típica*

La primera etapa del experimento consistió en evaluar la conducta sexual masculina de un grupo de 50 ratas macho adultas, en 5 Arenas Típicas (AT) o estándar, como la que se muestra en la Fig. 3. Esta AT consistió de un redondel de acrílico transparente de 50 cm de diámetro por 40 cm de alto (Fig. 3).

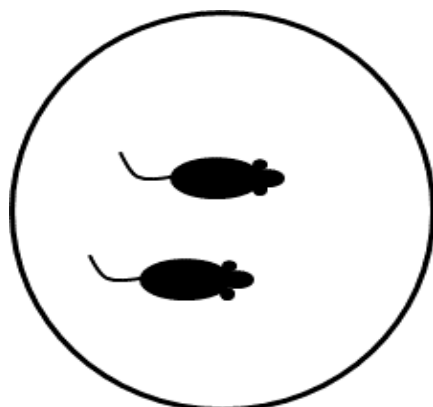


Figura 3. Esquema de la Arena Típica.

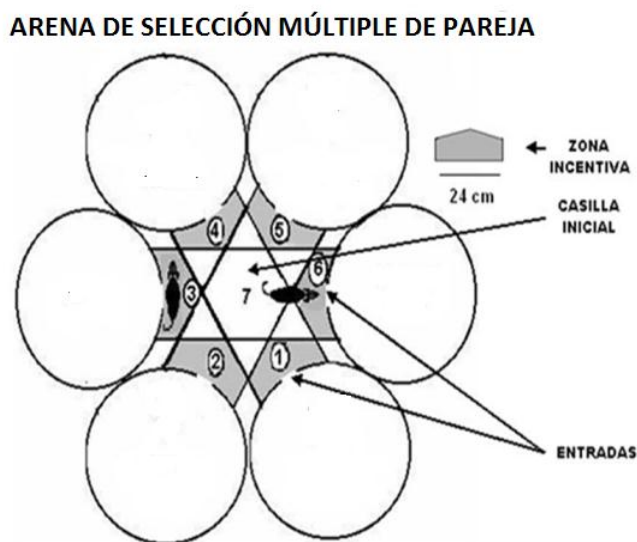


Figura 4. Arena de Selección Múltiple de Pareja, desarrollada por Ferreira Nuño y et al., 2010.

En un cuarto de observación con luz roja tenue, se realizaron tres pruebas semanales de conducta sexual masculina de 30 minutos. En el piso de cada arena se colocó una cama de aserrín y una rata macho adulta, marcada previamente en la cola. Después de un periodo de habituación de 5 minutos se introdujo a una hembra receptiva, pre-tratada con hormonas como se indicó anteriormente. Se registraron los siguientes parámetros de la conducta sexual masculina:

Latencia de monta y latencia de intromisión; número de montas, número de intromisiones que precedieron a cada eyaculación; *latencia de eyaculación; intervalo inter-intromisión, intervalo inter-copulatorio, periodo refractario post-eyaculatorio y la frecuencia de eyaculación.* Los resultados del tercer registro se emplearon para comparar la conducta sexual masculina en la AT con la registrada en la ASMP.

Los machos que realizaron 3 o más eyaculaciones en 30 minutos en las tres pruebas de la AT fueron seleccionados y considerados como **machos sexualmente expertos (MSE)**, únicamente 14 machos cumplieron con este criterio.

13.3 Evaluación de la Conducta Sexual Masculina de la Rata Macho en una Arena de Selección Múltiple de Pareja

La arena de selección múltiple de pareja (ASMP), consistió de 6 redondeles de acrílico transparente (50 cm de diámetro y 40 cm de altura), dispuestos en forma circular, formando un hexagrama en el área central (ver número 7, en la Fig. 4). Cada uno de los redondeles estaba numerado y tenía en la base una “compuerta” (de 5 cm de ancho x 8 cm de alto) con la finalidad de que la rata macho pudiera entrar y salir del redondel. En el área central de esta arena, se dibujaron en el piso, seis áreas incentivas en forma de pentágono de 24 cm de largo, por 13 cm de ancho, enfrente de los seis redondeles; y un hexágono central de 13 cm por lado, con el fin de poder visualizar la actividad que tiene la rata macho y cuantificar el tiempo de permanencia en cada una de las zonas (ver Fig. 4). El criterio para determinar que una rata macho estaba dentro del área incentiva, fue que sus cuatro patas estuvieran dentro de esta área o al menos las patas delanteras, con la nariz dirigida hacia la puerta de entrada (Fig. 4).

13.4 Habitación de machos y hembras en la ASMP

Las primeras dos sesiones de habitación consistieron en colocar a cada rata MSE de forma individual en el área central de la ASMP, para permitirle explorar los seis compartimentos de la arena por un periodo de 5 minutos. Las siguientes cuatro sesiones de habitación consistieron en cerrar las compuertas de los redondeles con una malla de metal (10 cm X 10 cm). Además, en cada uno de los redondeles 1, 2, 4 y 5 (ver Fig. 4), se colocó

de forma individual a una rata hembra ovariectomizada, **sin tratamiento hormonal**, sujetadas por el cuello con un cinturón de plástico, durante un periodo de 15 minutos, para que las ubicaran los machos. Cada 15 minutos, se sustituyeron estas hembras por otras, hasta que las 19 hembras que sirvieron como estímulo, tuvieron su periodo de habituación. Mientras tanto, se colocó a una rata macho de forma individual en el área central de la ASMP y se le permitió que explorará los seis compartimentos de la arena por un periodo de 5 minutos. La finalidad de colocar a las hembras en los redondeles con las compuertas cerradas, fue que el macho aprendiera a distinguir al animal estímulo que había en cada compartimento. Las ratas hembras estuvieron atadas al cuello con el objetivo de que se habituaran al cinturón de plástico que las sujetaba y evitar que intentaran salirse de los compartimentos durante las pruebas de selección de pareja.

13.5 Selección de las hembras estímulo para realizar la prueba de selección de pareja en la ASMP

Para llevar a cabo la segunda etapa del experimento, las 14 ratas macho sexualmente expertas fueron divididos en dos grupos (Grupo A y Grupo B; con una $n = 7$) y fueron evaluados en días diferentes, con las mismas condiciones experimentales. Sólo se evaluaron siete ratas, para que se registraran durante el tiempo que dura el ciclo de oscuridad del cuarto de observación, ya que de ser observados los 14 en una sola sesión, los últimos tendrían que ser evaluados durante el siguiente periodo de luz.

Se utilizaron diez hembras para cada grupo, pre-tratadas con E_2 y P_4 . En la ASMP se realizaron tres sesiones, con una semana de diferencia entre cada registro de conducta.

El día en que se llevó a cabo el experimento, las hembras que se emplearon como estímulo en la ASMP, se encontraban sexualmente receptivas. Ese mismo día, después de que fueron inyectadas con P_4 , las ratas hembra fueron alojadas en jaulas individuales (34 cm x 24 cm x 20 cm), con una cama de aserrín nuevo para cada una de ellas, con la finalidad de que el aserrín quedara impregnado con el aroma y orina de la hembra.

Tres horas después de haber administrado la P_4 , se registró el cociente de lordosis (LQ) de 10 ratas hembras. Para ello se colocaron de forma individual en una arena típica con siete machos sexualmente expertos, diferentes de los experimentales, hasta que cada una recibió 10 montas. Esta prueba permitió seleccionar a seis hembras que presentaran un $LQ > 90 \%$. La razón de seleccionar sólo seis hembras fue porque la ASMP está

constituida de seis redondeles y en la siguiente prueba se evaluó la preferencia que tienen los machos por las seis hembras, con base en su olor.

13.6 Prueba de preferencia olfatoria de las hembras en la ASMP

La prueba de preferencia de olor, se realizó con seis hembras seleccionadas con un LQ > 90 %, posteriormente se colectó el aserrín de sus jaulas individuales en cajas de Petri (una caja por hembra) rotulando la caja de Petri, con el número de la hembra correspondiente. Enseguida, cada caja de Petri descubierta se colocó por dentro y enfrente de la compuerta de acceso, de cada uno de los seis redondeles de la ASMP (ver Fotografía 1, en los anexos).

Una vez colocadas las 6 cajas de Petri, se colocó de manera individual a cada uno de los machos en el centro de la ASMP, manteniendo cerradas con una malla de alambre la entrada de las puertas de los seis redondeles y, durante cinco minutos, se registró el tiempo que permaneció cada rata macho dentro del área incentiva de los seis redondeles (Ver Fotografía 2, en los anexos). El criterio que tuvo que cumplirse para considerar que los machos estaban dentro del área incentiva fue: 1) que sus cuatro patas estuvieran dentro del área incentiva y/o 2) que estuviera olfateando directamente la compuerta del redondele donde se encontraba el aserrín (Ver Fotografía 2, en los anexos).

Al finalizar la prueba de selección olfatoria, se seleccionaron 4 cajas de Petri: aquellas dos que acumularon el mayor tiempo de permanencia de los machos en el área incentiva, así como las dos que acumularon el menor tiempo de permanencia. La finalidad de realizar la prueba de selección olfatoria, fue determinar si el estímulo olfatorio (atractividad), es determinante para la selección de pareja de la rata macho, es decir, *si la hembra correspondiente al mayor tiempo de permanencia en la prueba olfatoria, resultaba ser la que recibiera un mayor número de eyaculaciones en una siguiente prueba, donde el macho tuvo acceso a las cuatro hembras estímulo en la ASMP.*

13.7 Evaluación de la Conducta Sexual y de Selección de Pareja de la Rata Macho en la ASMP

Inmediatamente después de que se determinó las 4 cajas Petri que contenían el aserrín de las 4 hembras seleccionadas (2 más preferidas y 2 menos preferidas), las cajas se sustituyeron por las hembras correspondientes y se ataron al cuello con un cinturón de

plástico para evitar que se salieran de los redondeles. Las hembras, se colocaron en los redondeles 1, 2, 4 y 5 de la ASMP, mientras que los redondeles 3 y 6 se mantuvieron vacíos y con las compuertas cerradas (ver Fotografía 3, en los anexos). Con el fin de evitar que las ratas macho prefirieran entrar más a un redondel por su posición espacial y no por la hembra que contenían, se rotó la posición de las 4 hembras en la ASMP, hacia la derecha, cada vez que se terminó la evaluación de cada macho. Asimismo, los redondeles de acrílico, como la base de la ASMP con las áreas incentivas dibujadas fueron limpiados con alcohol al 10% para eliminar la posible influencia de feromonas impregnadas por las hembras en las pruebas anteriores.

A las ratas macho se les dio un periodo de habituación de 5 minutos antes de iniciar la prueba, tiempo en el que las compuertas de los redondeles donde se encontraron las hembras estímulo permanecieron cerradas con una malla metálica. Pasado el tiempo de habituación, se retiró la malla y se inició la prueba de apareamiento. Durante esta prueba de 30 minutos, el macho tuvo acceso a las cuatro hembras, y se registraron los diferentes parámetros de conducta sexual masculina y femenina.

Parámetros de Conducta Sexual Masculina, registrados:

Latencia de monta, latencia de intromisión, latencia de eyaculación, número de montas, número de intromisiones, intervalo inter-intromisión, intervalo intercopulatorio, periodo refractario post-eyaculatorio y frecuencia de eyaculación, tal como se caracterizaron los parámetros en el paradigma de Arena Típica. Cabe señalar, que para determinar las latencias y el intervalo post-eyaculatorio, sólo se consideró el tiempo que permaneció la rata macho en cada uno de los redondeles, descartando el tiempo que paso fuera de ellos y del alcance de las hembras receptivas.

Mientras que para la evaluación de la conducta sexual masculina de la rata macho en ambas arenas, sólo se compararon los datos obtenidos en la tercera prueba realizada en la AT, con los registrados durante la primera prueba realizada con la ASMP. Para la evaluación de la selección de pareja, se efectuaron 3 pruebas semanales con cada uno de los grupos de siete machos, incluyendo la selección de hembras y la prueba olfatoria previa, con el fin de determinar si en las condiciones de la ASMP, los machos demostraban

preferencia por una de las hembras. Para ello se registraron a lo largo de la prueba de 30 minutos los siguientes parámetros:

- **El orden en que fue visitado por el macho, cada uno de los redondeles donde se encontraban las hembras estímulo,**
- **La frecuencia con que fue visitada cada hembra por el macho.**
- **La frecuencia de intromisiones y de eyaculaciones que recibió cada una de las hembras por cada macho.**

Al final del estudio, se calculó el porcentaje del tiempo que permaneció el macho en cada uno de los redondeles donde se encontraban las hembras estímulo de la siguiente manera: **tiempo de permanencia en el redondel de la hembra / tiempo total que el macho permaneció en los 4 redondeles, con cada una de las hembras x 100**). Esto se realizó porque el tiempo total de permanencia en las cuatro cámaras varió considerablemente entre cada uno de los machos.

Además, durante los 30 minutos de la prueba, se registraron las siguientes *conductas proceptivas*: - *frecuencia de movimientos de orejas (ear wiggling)*, - *saltitos (hopping)* y - *carreras en zig-zag (darting)*, así como la - *frecuencia de lordosis que desplegaron con cada uno de los machos que las visitaron*. Para esta prueba, fueron necesarios 2 observadores: uno para registrar la conducta masculina y otro para evaluar la conducta femenina, de manera simultánea.

Tomando en cuenta que Ferreira-Nuño *et al.* (2005) han demostrado en la hembra y Snoeren *et al.*, (2014 c) en el macho, que la rata muestra una preferencia por la pareja que visita primero, cuando se aparean simultáneamente con varios sujetos, al finalizar las pruebas se relacionó el orden en que el macho interactuó y entro con cada una de las hembras, tomando los siguientes factores:

- a) *Porcentaje del tiempo de permanencia en cada redondel*
- b) *Frecuencia de visitas realizadas por el macho a cada hembra*
- c) *Frecuencia de intromisiones*
- d) *Frecuencia de eyaculaciones recibidas por el macho*
- e) *Frecuencia de lordosis*
- f) *Frecuencia de orejeo*
- g) *Frecuencia de carreritas*
- h) *Frecuencia de saltitos desplegados por las hembras a lo largo de la prueba.*

Asimismo, se correlacionó el número de eyaculaciones recibidas por las hembras, con los mismos factores mencionados anteriormente, ahora considerando que en un contexto reproductivo, tendría más sentido que la hembra preferida fuera la que recibiera más eyaculaciones.

Para evaluar la influencia del olor de las hembras en la selección de pareja, se compararon las eyaculaciones que recibieron las hembras más preferidas por su olor con las menos preferidas. Por último, se analizó la posibilidad de que varios machos de un mismo grupo seleccionaran a la misma hembra.

13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si los parámetros de la CSM de la rata macho adulta se modifican al ser evaluados en la ASMP con respecto a la AT, se empleó la prueba no paramétrica de signos de Wilcoxon, porque los datos no cumplieron con el supuesto de normalidad.

Para analizar la relación del orden en que fueron visitadas las hembras con el resto de los parámetros, y a razón de no haber una distribución normal se empleó la ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, seguida por un análisis post-hoc de Newman-Keuls. Esta misma prueba se empleó para determinar si el macho presentó preferencia por una hembra en particular, en función del olor y del número de eyaculaciones que realizó a cada una de las 4 hembras.

También se empleó la prueba de Chi-Cuadrada para determinar si la hembra que fue visitada primero, también fue la que recibió la primera monta, la primera intromisión y las primeras dos eyaculaciones.

En todas las pruebas se empleó un nivel de significancia menor o igual a 0.05.

14. RESULTADOS

14.1 Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja

a) Latencia de Monta (LM)

En la Fig. 5 se muestran los resultados de la latencia de monta (LM) de los machos luego de ser evaluados en la arena típica (AT) y en la arena de selección múltiple de pareja (ASMP). Cuando las ratas fueron evaluadas en la ASMP, en la LM se obtuvieron valores marginalmente más altos que en la AT ($\bar{x} \pm E. E.$, AT = 27.93 ± 12.47 s; ASMP = 30.07 ± 6.28 s, Fig. 5) sin embargo no hay diferencias estadísticamente significativas.

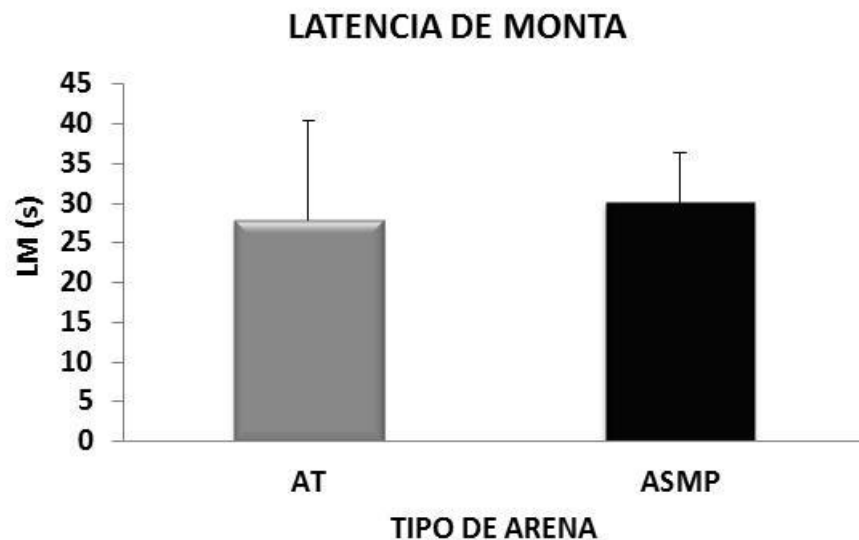


Figura 5. Latencia de Monta, LM ($\bar{x} \pm E. E.$), obtenida por el mismo grupo de ratas macho sexualmente expertos ($n = 14$) luego de ser evaluados en una arena típica (AT) y en una arena de selección múltiple (ASMP) en pruebas de 30 minutos, se aplicó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

b) Latencia de Intromisión (LI)

En la Fig. 6 se muestran los resultados de la latencia de intromisión (LI) de los machos, después de ser evaluados en las 2 arenas (AT y ASMP).

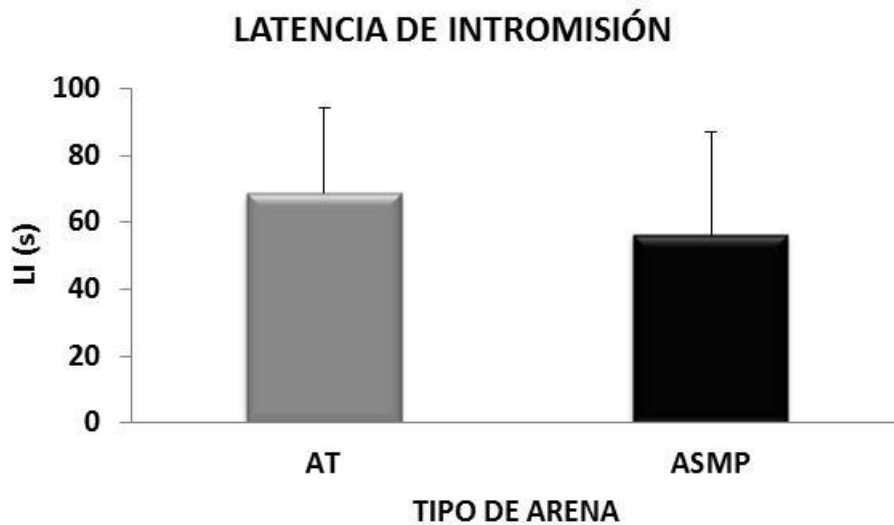


Figura 6. Latencia de Intromisión, ($\bar{x} \pm E. E.$), obtenidas por el mismo grupo de ratas macho, luego de ser evaluados en dos tipos de arena, la típica (AT) y la de selección múltiple de pareja (ASMP) en pruebas de 30 minutos, se aplicó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

Cuando las ratas fueron evaluadas en la ASMP se obtuvo una latencia de intromisión menor, a la que se obtuvo en la AT, estos valores resultaron más bajos con respecto a los registrados en la AT ($\bar{x} \pm E. E.$, AT = 68.86 ± 25.61; ASMP = 56.36 ± 30.82 s), estadísticamente no se encontraron diferencias significativas.

c) Latencia de Eyaculación (LE)

En cuanto a la LE (ver Fig. 7), los machos evaluados en la ASMP mostraron valores más bajos con respecto a los obtenidos en la AT, en las tres primeras series copulatorias: ($\bar{x} \pm E. E.$), 1ª serie copulatoria (AT = 319.3 ± 52.92 s vs ASMP = 287.1 ± 49.71 s); 2ª serie copulatoria (AT = 264.2 ± 79.12 s vs ASMP = 145.8 ± 33.92 s) y 3ª serie copulatoria (AT = 191 ± 58.22 s vs ASMP = 70.57 ± 8.78 s). Sin embargo, estas diferencias sólo fueron significativas en la 3ª serie copulatoria, (W = 74; p = 0.006, Wilcoxon). En ambas arenas se observó que la LE va disminuyendo, conforme pasan las series copulatorias.

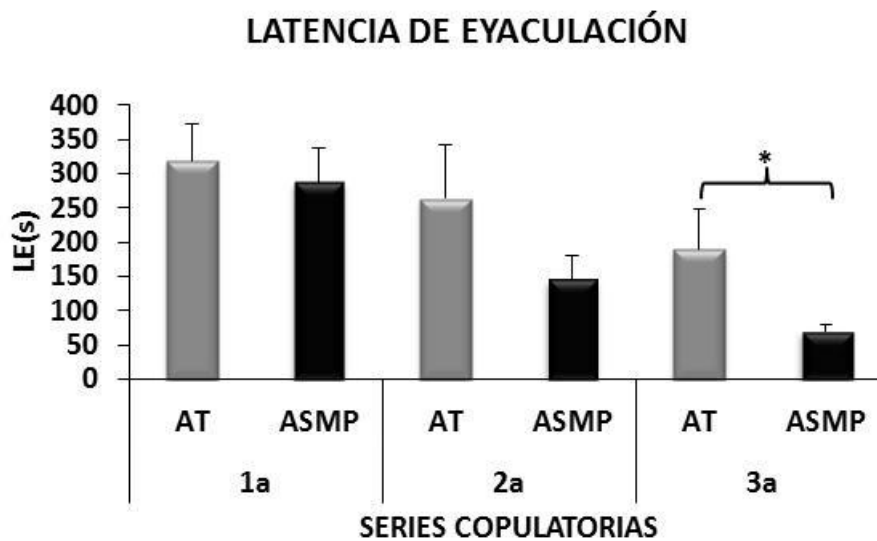


Figura 7. Latencia de Eyaculación ($\bar{x} \pm E. E.$), de las primeras tres series copulatorias, ratas macho, evaluadas en una arena típica (AT) y en una arena de selección múltiple (ASMP) en pruebas de 30 minutos. * $p < 0.05$ se empleó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

d) Periodo Refractario Post-eyaculatorio

En la Fig. 8 se muestran los resultados del PRPE de las dos primeras series copulatorias, de ratas macho sexualmente expertas, después de ser evaluados en la AT y en la ASMP. Sólo se presentan estos datos debido a que el porcentaje de sujetos que eyacularon, disminuyó notablemente a partir de la 2ª serie copulatoria. Cuando los machos fueron evaluados en la ASMP, presentaron valores significativamente más bajos en el PRPE que cuando se evaluaron en la AT: 1ª serie copulatoria ($\bar{x} \pm E. E.$, AT = 312.5 ± 13.49 s vs ASMP = 214.6 ± 22.03 s, $W = 241$; $p = 0.0008$, Wilcoxon) y los resultados de la 2ª serie copulatoria fueron (AT = 359.3 ± 21.35 s vs ASMP = 263 ± 17.51 s, $W = 118$; $p = .0041$, Wilcoxon), resultando menores en la ASMP, cuando se compararon en la AT.

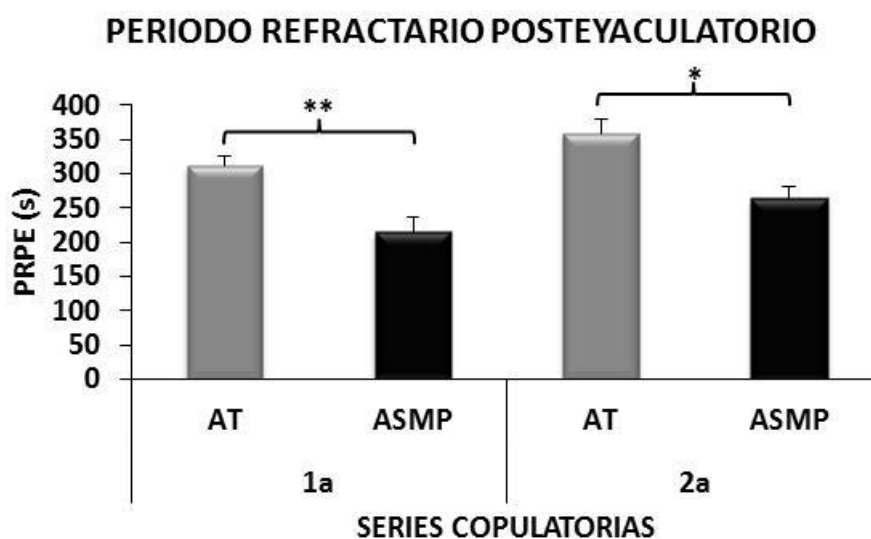


Figura 8. Periodo Refractario Post-eyaculatorio ($\bar{x} \pm E. E.$), de las dos primeras series copulatorias, de ratas macho evaluados en una arena típica (AT) y en una arena de selección múltiple (ASMP) en pruebas de 30 minutos. ** $p < 0.01$ y * $p < 0.05$, datos analizados utilizando la prueba de rangos de Wilcoxon.

e) Número de Montas (NM)

En la Fig. 9 se observa que el NM tuvo un promedio de 6.3 en la AT, con respecto a 10.3 en la ASMP. El NM de los machos evaluados en la ASMP no difirió de cuando fueron evaluados en la AT en la primera y segunda serie copulatoria, (1ª serie copulatoria: ($\bar{x} \pm E. E.$; AT = 6.3 ± 1.68 montas vs ASMP = 10.3 ± 3.08 montas) mientras que en la 2ª serie copulatoria fue de AT = 6.2 ± 2.03 montas vs ASMP = 6.9 ± 2.87 montas), en la tercera serie se redujo el NM en la ASMP, teniendo los siguientes resultados (AT = 6.7 ± 2.37 montas vs ASMP = 2.7 ± 0.57 montas).

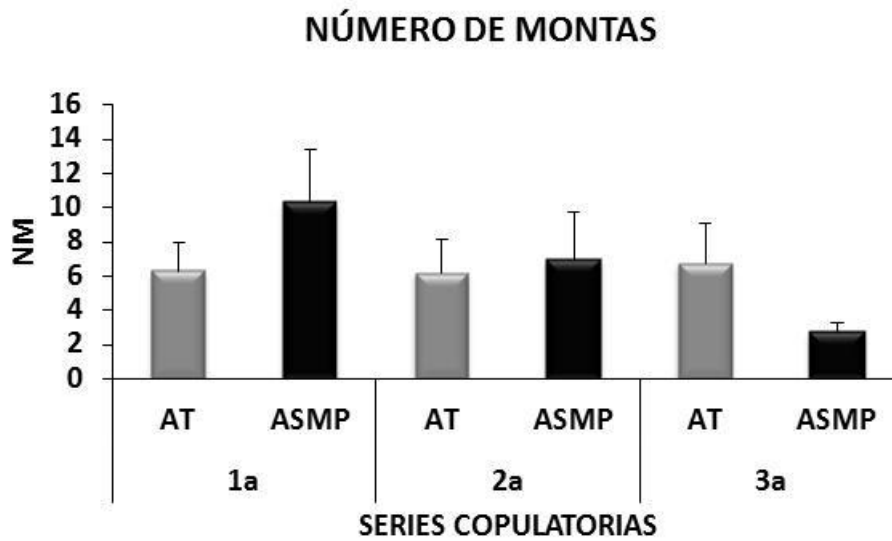


Figura 9. Número de Montas ($\bar{x} \pm E. E.$), durante las tres primeras series copulatorias, luego de ser evaluadas en dos tipos de arenas (AT y ASMP) en pruebas de 30 minutos, se aplicó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

f) Número de Intromisiones (NI)

En la Fig. 10 se observa el NI que presentaron los machos en las dos arenas (AT y ASMP). No se encontraron diferencias significativas en ninguna de las series copulatorias. 1ª serie copulatoria, ($\bar{x} \pm E. E.$; AT = 8.1 ± 0.71 intromisiones vs ASMP = 10.1 ± 1.11 intromisiones); 2ª serie copulatoria (AT = 6.0 ± 0.64 intromisiones vs ASMP = 5.7 ± 0.48 , intromisiones); 3ª serie copulatoria, (AT = 7.1 ± 2.0 vs ASMP = 4.6 ± 0.5 intromisiones).

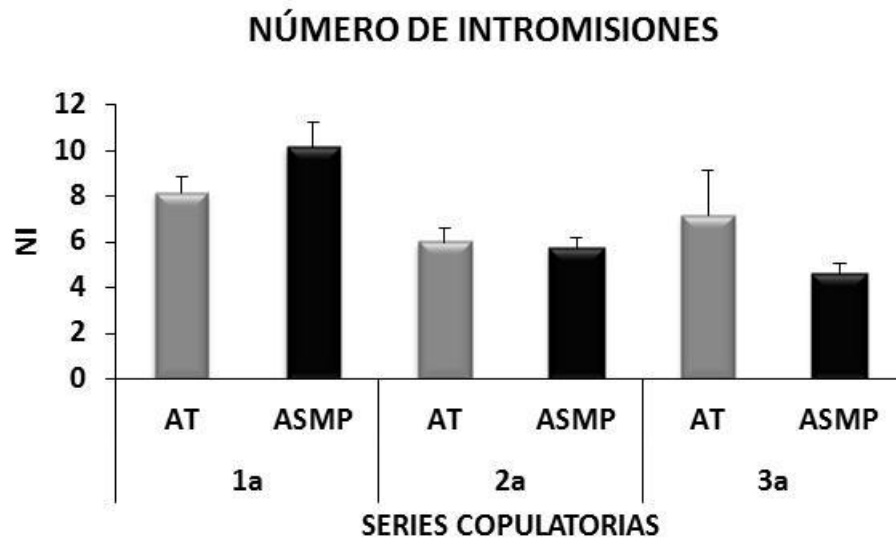


Figura 10. Número de Intromisiones ($\bar{x} \pm E. E.$), obtenidos de ratas macho, durante las tres primeras series copulatorias, luego de ser evaluadas en dos tipos de arenas (AT y ASMP) en pruebas de 30 minutos, se utilizó la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

g) Intervalo Inter-Intromisión (III)

En la Fig.11 se muestran los resultados del III. No se encontraron diferencias en la 1ª serie copulatoria ($\bar{x} \pm E. E.$, AT = 39.11 \pm 5.42 s vs ASMP = 28.14 \pm 4.7 s, W= 233, p = 0.17) ni en la 2ª serie copulatoria (AT = 38.69 \pm 7.64 s vs ASMP = 23.63 \pm 3.35; W = 197.5; p = 0.26), entre los ambientes donde se llevó a cabo la cópula. Sin embargo, en la tercer serie copulatoria si se encontró una reducción estadísticamente significativa en el III en la ASMP con respecto a la AT, (AT = 29.43 \pm 5.02 s vs ASMP = 16.24 \pm 2.30; W= 71, p = 0.01).

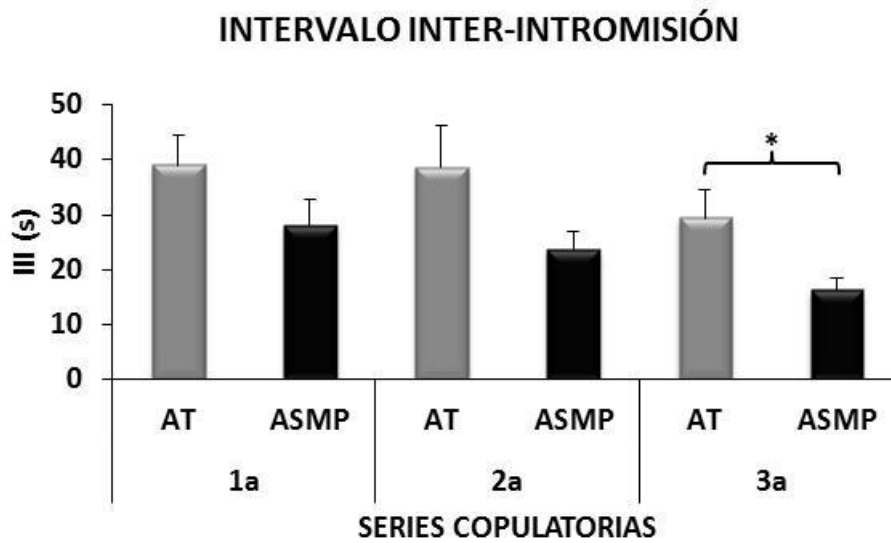


Figura 11. Intervalo Inter-Intromisión ($\bar{x} \pm E. E.$), de las tres primeras series copulatorias, obtenidas por el mismo grupo de ratas macho, luego de ser evaluados en una arena típica (AT) y en una arena de selección múltiple (ASMP) en pruebas de 30 minutos. * p < 0.05 luego de aplicar la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

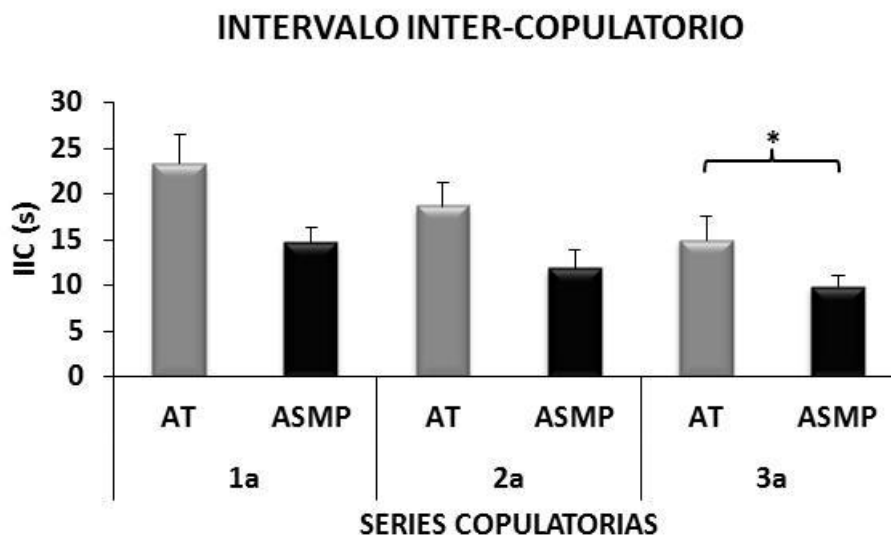


Figura 12. Intervalo Inter-Copulatorio ($\bar{x} \pm E. E.$), de las tres primeras series copulatorias, obtenidas por el mismo grupo de ratas macho, luego de ser evaluados en una arena típica (AT) y en una arena de selección múltiple (ASMP) en pruebas de 30 minutos. * p < 0.05 luego de aplicar la prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

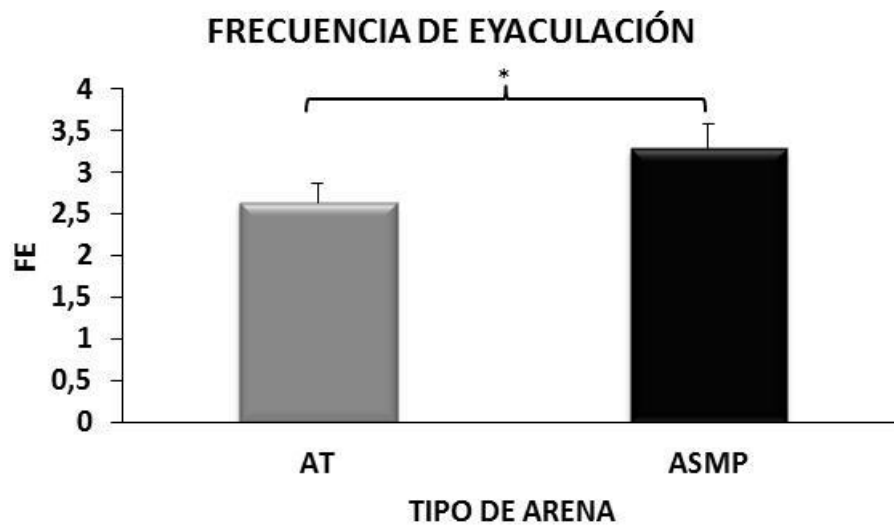


Figura 13. Frecuencia de Eyaculación ($\bar{x} \pm E. E.$), durante 30 minutos de registro en dos arenas ASMP y AT. * $p < 0.05$ se realizó una prueba de rangos con signos de Wilcoxon.

h) Intervalo Inter-Copulatorio

En la Fig.12 se muestran los resultados del IIC. No se encontraron diferencias entre los tipos de cópula en la 1ª serie copulatoria ($\bar{x} \pm E. E.$, AT = 23.3 ± 3.3 s vs ASMP = 14.7 ± 1.6 s, W= 39, p = 0.3967) ni en la 2ª serie copulatoria (AT = 18.7 ± 2.7 s vs ASMP = 11.9 ± 2.1 s; W = 21, p = 0.0869). Sin embargo, sólo en la tercer serie copulatoria se encontró una reducción estadísticamente significativa en el IIC en la ASMP con respecto a la AT, (AT = 14.8 ± 2.5 s vs ASMP = 9.8 ± 1.2 s; W= 1, p = 0.028).

i) Frecuencia de Eyaculación (FE)

La Fig. 13 muestra los resultados de la FE ($\bar{x} \pm E. E.$) de los machos en ambas arenas. En esta gráfica se observa que cuando los machos copularon en la ASMP, obtuvieron una FE significativamente mayor a la registrada en la AT (AT = 2.64 ± 0.23 vs ASMP = 3.29 ± 0.3; p < 0.05, Wilcoxon).

Se presentan en la Tabla 1 los datos de todos los parámetros sexuales evaluados en los dos paradigmas la Arena Típica y en la Arena de Selección Múltiple de Pareja (Tabla 1).

Tabla 1. Datos de los parámetros sexuales, obtenidos de 14 ratas macho sexualmente expertos, en dos arenas diferentes: la AT y la ASMP, durante la primera serie copulatoria.

Parámetros Sexuales	Arena Típica (AT) n = 14	Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP) n = 14
Latencia de monta (LM), s	27.93 ± 12.47	30.07 ± 6.28
Latencia de Intromisión (LI), s	68.86 ± 25.61	56.36 ± 30.82
Latencia de Eyacuación (LE), s	319.3 ± 52.92	287 ± 49.71
Periodo Refractario Post-eyaculatorio (PRPE), s	312.5 ± 13.49	214.6 ± 17.51**
Número de montas (NM)	6.3 ± 1.68	10.3 ± 3.08
Número de Intromisiones (NI)	8.1 ± 0.71	10.1 ± 1.11
Intervalo Inter-Intromisión (III), s	39.11 ± 5.42	28.14 ± 4.7
Intervalo Inter-Copulatio (IIC), s	23.3 ± 3.3	14.7 ± 0.23
Frecuencia de Eyacuación (FE)	2.64 ± 0.23	3.29 ± 0.3*

**** p < 0,01 y * p < 0,05 después de la prueba de rangos con signos de Wilcoxon, resultados de la AT en comparación con los machos evaluados en una ASMP.**

14.2 Selección de Pareja en la Rata Macho Adulta Sexualmente Experta, en la ASMP

14.2.1 Relación del orden en que fueron visitadas las hembras por el macho con otros parámetros, en la selección de pareja

En la Figura 14 se muestra la relación que tuvieron varios parámetros registrados en la ASMP, con el orden en que fueron visitadas las cuatro hembras por la rata macho. Luego de aplicar una ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, se observó una preferencia del macho por la hembra que fue visitada primero, con respecto a las hembras que visitó después, mostrando diferencias significativas ($p < 0.001$) en los siguientes parámetros: en la frecuencia de eyacuaciones ($H= 50.53$; Fig.14 a) así como en la frecuencia de intromisiones ($H= 61.52$; Fig. 14 b) que recibió del macho; en la frecuencia con que la visitó ($H= 20.52$; Fig. 14 c) y en el porcentaje de tiempo que el macho pasó con ella ($H= 44.81$; Fig. 14 d). Estos resultados sugieren que el macho permaneció más tiempo con la hembra con la que interactuó primero. Interesantemente, la hembra que fue visitada primero, desplegó significativamente más conductas paracopulatorias, relacionado con una mayor frecuencia de lordosis ($H= 42.99$; Fig. 12e), con mayor frecuencia de orejeos ($H=$

39.32, Fig. 12f), de saltitos ($H= 18.16$; Fig. 12g) y de carreritas ($H= 41.88$; Fig. 12h) con respecto a las otras 3 hembras que fueron visitadas subsecuentemente durante el registro.

Se analizó el tiempo de permanencia que cada una de las hembras acumulo en la prueba olfatoria y se relacionó con el orden en que fueron visitadas por los machos. En la Figura 15 se observa la relación del orden de visita y el tiempo de permanencia de la prueba olfatoria. Luego de aplicar una ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, se observó que el olor no determina la preferencia del macho por la hembra que visita en primer orden ($H= .6288$, $p = .8898$).

Adicionalmente, se analizó la relación entre las hembras que recibieron más eyaculaciones de los machos, con cada uno de los parámetros: frecuencia de lordosis, orejeos, saltitos y carreritas; y no se observaron diferencias significativas, por lo tanto no se presentaron los resultados en esta Tesis.

14.2.2 Influencia del olor en la selección de pareja de la rata macho

Se analizó la influencia del olor de cada una de las cuatro hembras sexualmente receptivas en la selección de pareja de la rata macho adulta en la ASMP.

En la Figura 16 se observa el tiempo de permanencia que cada uno de los machos presento en 5 minutos, con cada una de las 4 hembras en la prueba olfatoria previa. Luego de aplicar una ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, en seis registros se observó que los machos de ambos grupos no mostraron preferencia por el olor de una hembra en particular; prueba 1 (Grupo A , $H= 4.1369$, $p= 0.2471$; Grupo B n=, $H= 1.7755$, $p= 0.6203$), prueba 2 (Grupo A, $H=1.0271$, $p =0.7947$; Grupo B, $H=1.3163$, $p= 0.7253$) y prueba 3(Grupo A, $H=3.373$, $p = 0.4987$; Grupo B, $H= 3.7284$, $p= 0.2923$). **Estos resultados sugieren que los olores individuales de las hembras, en la ASMP no influyo en la preferencia sexual de pareja.**

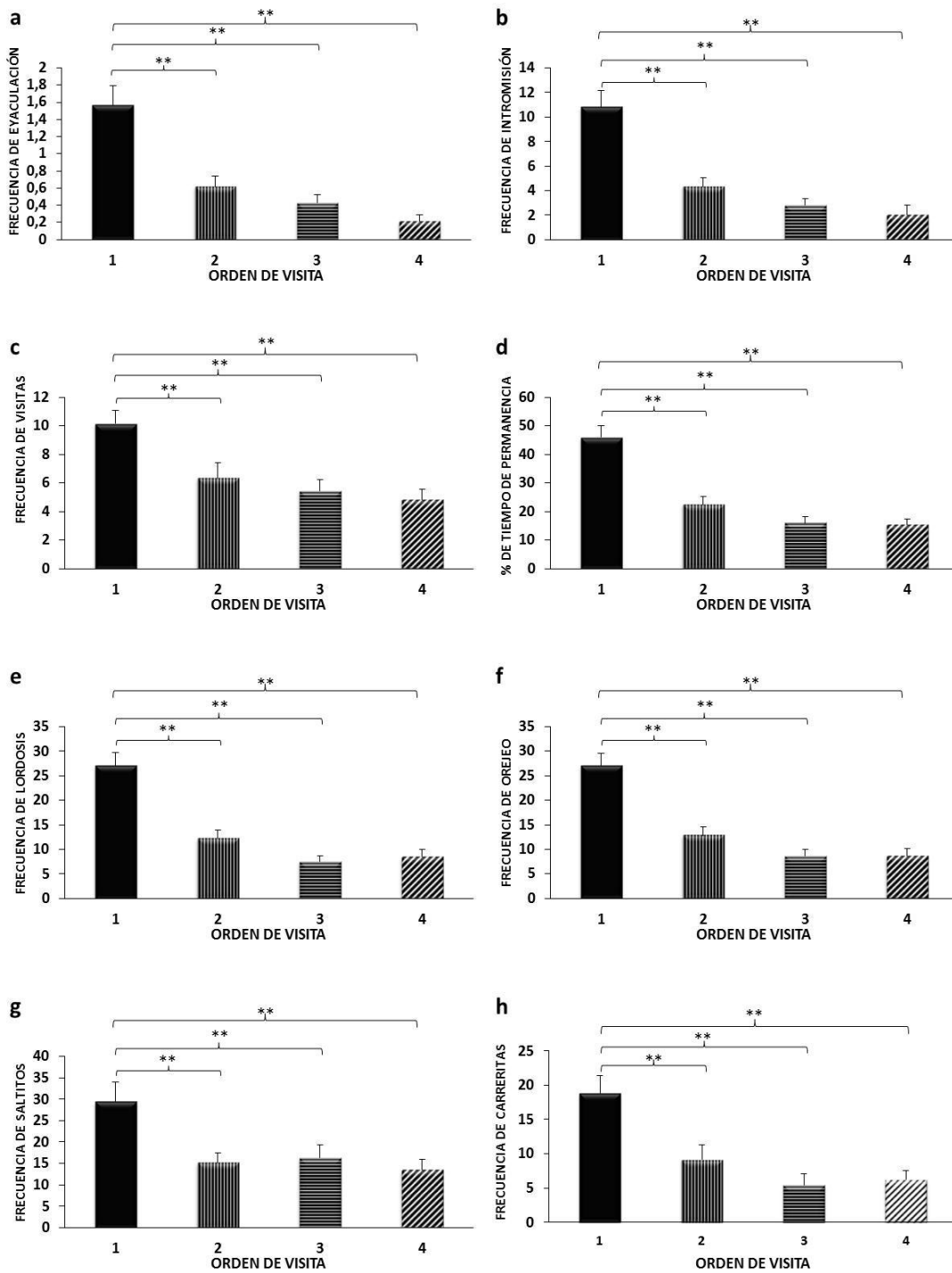


Figura 14. Relación del orden en que fue visitada cada una de las cuatro hembras por las ratas macho sexualmente expertas en la ASMP, con la media \pm E. E. de los siguientes parámetros: Porcentaje de tiempo que permanecieron los machos en los redondeles de las hembras (a), frecuencia de veces que fueron visitados los redondeles por los machos (b), frecuencia de intrusiones (c) y eyacuaciones (d) que recibieron las hembras, así como la frecuencia de lordosis (e), orejeos (f), saltitos (g) y carreritas (h) que expresaron las hembras en presencia del macho. ** $p < 0.001$ significativamente diferente de las otras hembras, luego de realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis, seguida de una prueba post-hoc de Newman-Keuls.

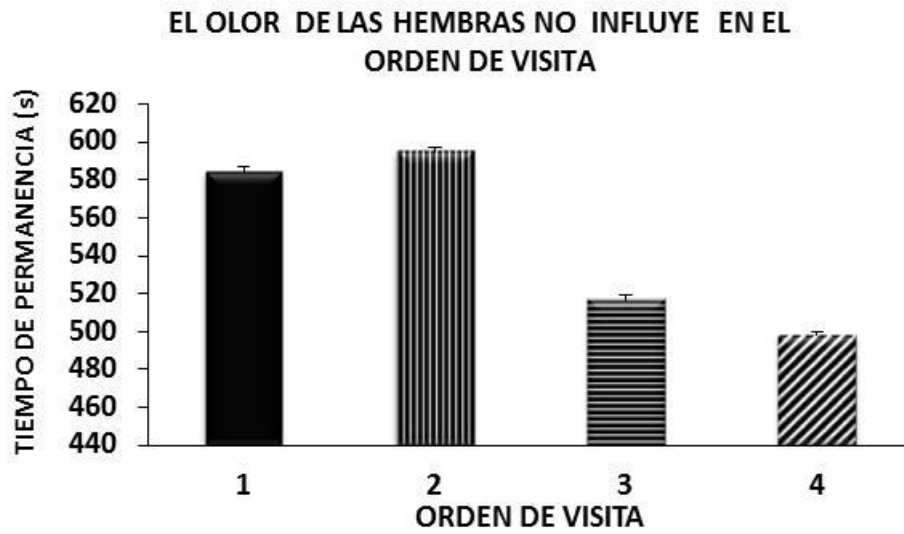


Figura 15. Relación del orden en que fue visitada cada una de las cuatro hembras por las ratas macho sexualmente expertas en la ASMP, con la media \pm E. E. del tiempo total que los machos permanecieron oliendo los redondeles donde se encontraron las cajas de Petrí, en la prueba olfatoria. Luego de realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis, no se encontraron diferencias significativas.

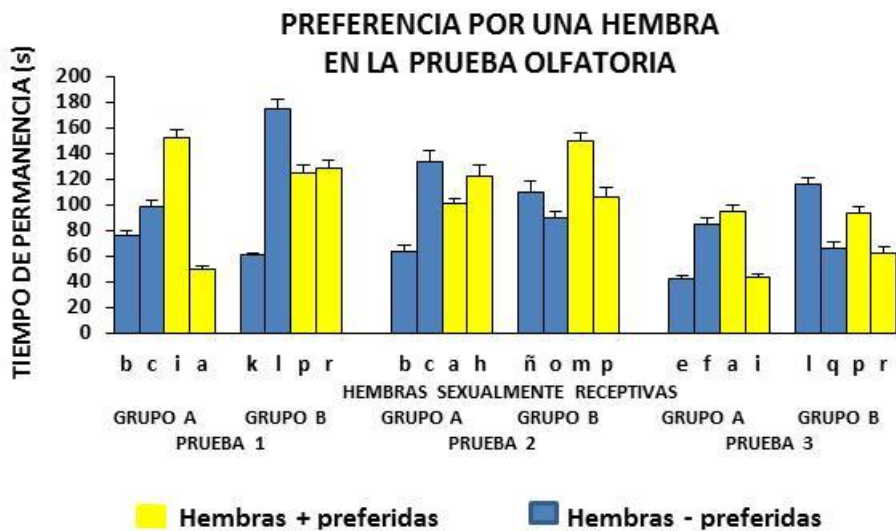


Figura 16. Tiempo de permanencia de las ratas macho, en la prueba olfatoria, luego de realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis.

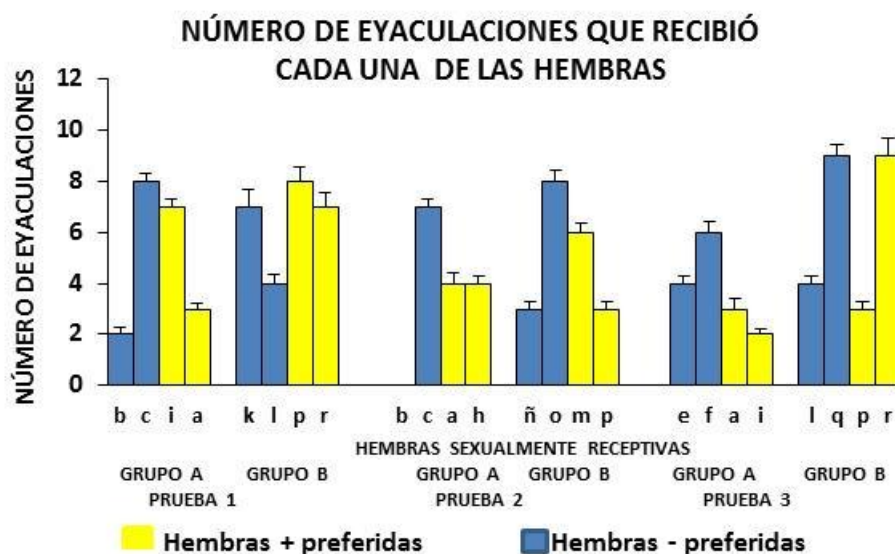


Figura 17. Número de eyaculaciones que recibió cada una de las 4 hembras de cada grupo de machos, en tres pruebas semanales, luego de realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis.

También se analizó de las 3 pruebas realizadas en la ASMP, el número de eyaculaciones que recibió cada una de las 4 hembras sexualmente receptivas. En la Figura 17, se observa el número de eyaculaciones que recibió cada una de las hembras en ambos grupos. Luego de aplicar una ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, en seis registros se observó que los machos de ambos grupos no mostraron preferencia por el olor de una hembra en particular; prueba 1 (Grupo A, $H= 4.9529$, $p= .1753$; Grupo B, $H= .675$, $p= .8924$), prueba 2 (Grupo A, $H= 5.1334$, $p= .1613$; Grupo B, $H= 2.1144$, $p= .549$) y prueba 3 (Grupo A, $H= 1.7977$, $p= .6154$; Grupo B, $H= 2.9061$, $p= .4063$).

14.2.3 Influencia del Estimulo Recompensante que podría representar la primera Monta, Intromisión y Eyaculación en la Selección de Pareja

Una vez que se determinó que la preferencia de los machos por el aroma de las hembras en la prueba olfatoria, no influyó en la selección de la hembra que visitaron primero, se contempló la posibilidad de que esta preferencia estuviera determinada por el efecto recompensante generado por el efecto de la primera intromisión o la primera eyaculación que recibió la hembra. Esto se refiere, a que si un animal muestra un comportamiento que induce un estado de recompensa, como es la intromisión y la

eyaculación, aumenta la probabilidad de que estos comportamientos se repitieran de nuevo con la misma hembra, mostrando así una preferencia por la hembra que ha recibido la primera intromisión o eyaculación. Parámetro que Snoeren, et al., (2014) plantearon en su estudio, luego de haber demostrado que ni el olor de las hembras, ni las vocalizaciones emitidas por ellas, fueron elementos determinantes para ser seleccionadas por el macho, que las visitó e interactuó con ellas por primera vez.

Nuestros datos demuestran que la hembra que fue visitada primero (Tabla 2), 34 veces (80.95%, $p < 0.001$), fue la que recibió la primera monta; 36 veces (85.71 %, $p < 0.001$) fue la que recibió la primera intromisión; 22 veces (52.38%, $p < 0.001$) la que recibió la primera eyaculación. De estas 22 veces en que la hembra fue visitada primero, recibió la primera eyaculación, en 14 ocasiones (63.63 %, $p < 0.001$) también recibió la segunda eyaculación. Lo anterior sugiere que, en efecto, el estado de recompensa que se produce en el macho por el despliegue de los patrones copulatorios de monta, intromisión y eyaculación podría estar influyendo en la permanencia del macho con la primera hembra visitada. Ya que si un animal muestra un comportamiento que induce un estado de recompensa, como es la eyaculación, esto aumentaría la probabilidad de que el comportamiento de eyaculación se repitiera de nuevo con la misma hembra.

Tabla 2. Número de ves que la hembra visitada en primer orden en la ASMP, recibe la primera monta, intromisión y eyaculación. $p < 0,05$ después de la prueba de Chi-Cuadrada

		%	Chi-cuadrado
<i>Número de observaciones</i>	42	100	P
<i>N° de veces que la hembra visitada en primer orden, recibió la primera monta.</i>	34	80.95	< 0.0001
<i>N° de veces que la hembra visitada en primer orden, recibió la primera intromisión.</i>	36	85.71	< 0.0001
<i>N° de veces que la hembra visitada en primer orden, recibió la primera eyaculación.</i>	22	52.38	< 0.0001
<i>N° de veces en que la hembra que recibió la primera eyaculación, recibió la segunda eyaculación.</i>	14	63.63	< 0.0001

14.2.4 Preferencia de una hembra por varios machos

Se analizó la posibilidad de que una de las cuatro hembras sexualmente receptivas fuera preferida por varios machos en la ASMP.

La preferencia se analizó con base al número de machos que eyacularon a una hembra en particular, en cada sesión de registro. En la Figura 18, se observan tres registros, del número de machos que eyaculan a una hembra en particular, y luego de aplicar una ANOVA no paramétrica de Kruskal-Wallis, en **seis registros se observó que varios machos no muestran preferencia por la misma hembra**; Prueba 1 (Grupo A n=7, H=4.5517, p = 0.2077; Grupo B n= 7, H=.8276, p= 0.8429), Prueba 2 (Grupo A, H=5.3793, p =.143; Grupo B, H=1.6552, p= 0.6469) y prueba 3(Grupo A, H=2.069, p = 0.5582 ; Grupo B, H=3.6207, p= 0.3054).

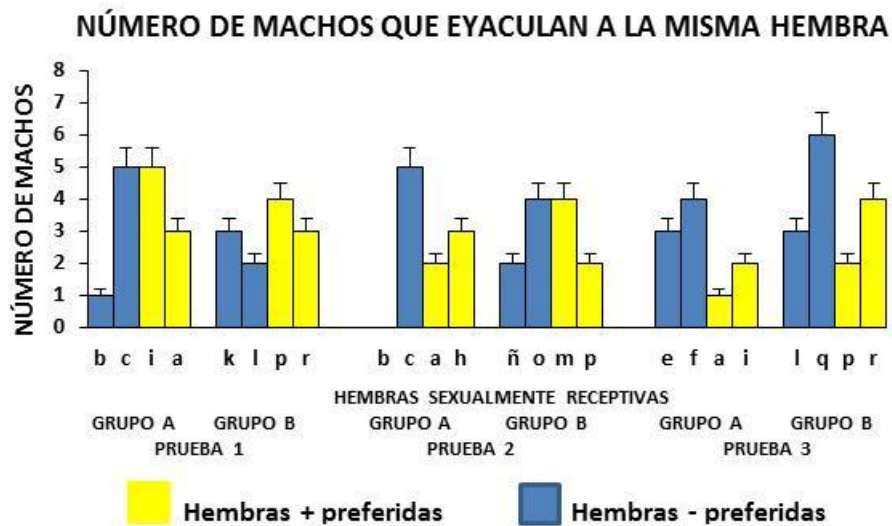


Figura 18. Número de machos que eyaculan a la misma hembra en tres pruebas semanales, luego de realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis.

15. DISCUSIÓN

15.1 Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho Adulta en una Arena de Selección Múltiple de Pareja

Para la observación de la CSM de la rata en condiciones de laboratorio, el macho suele ser apareado en una arena típica o estándar (Beach y Ransom, 1967). Por otro lado, todos los experimentos con ratas han sido diseñados para investigar la influencia de la hembra como estímulo sobre la conducta sexual del macho. Donde la pareja original ha sido retirada y puesta de vuelta o se han sustituido por nuevas parejas, pero la arena típica se ha mantenido constante. Sin embargo, en recientes investigaciones por Bergheim, et al., (2015), han demostrado que la tendencia para copular de la rata macho no depende exclusivamente de las propiedades del estímulo femenino, pero si puede disminuir o verse reforzada por aspectos particulares de los diferentes ajustes ambientales (Beach, 1947; Pfau, et al., 2003). Esto planteó el siguiente cuestionamiento: a) los parámetros de la CSM de la rata macho se modificarán si copula en una ASMP con cuatro hembras de manera simultánea cuando se compararán con los obtenidos en una AT.

Los resultados de cuando los machos copulan en una ASMP con cuatro hembras receptoras simultáneamente mostraron una reducción significativa del PRPE (Fig. 8), mientras que el III (Fig. 11) y la LE (Fig. 7), disminuyeron sólo en la tercera serie copulatoria, en comparación de cuando copulan en una AT con una sola hembra, dato que resulta muy importante en esta Tesis. De acuerdo con Meisel y Sachs (1994), los parámetros que permiten evaluar el componente motivacional en la rata macho son: la LM, la LI, el PRPE y el III, ya que demuestran el interés que tiene el macho por buscar el contacto sexual con la hembra. En este sentido, nuestros resultados demuestran que cuando la rata macho cópula en una arena como la ASMP, se incrementa su motivación/excitación sexual (Fig. 1, 2, 8, 11 y 12) .

Probablemente, la reducción del III y del IIC fue responsable de la disminución significativa en la LE durante la tercera serie copulatoria. Y se podría sugerir que la reducción en el PRPE, III, IIC y LE dieron como resultado un aumento significativo en la FE (Fig. 12) en el paradigma de la ASMP, en comparación con los parámetros obtenidos en la AT. Beach y Ransom (1967), señalaron que la presencia de una nueva hembra receptiva en un nuevo ambiente incrementa el número de machos que reanudan la cópula y

existe un aumento en el número de eyaculaciones. Por otro lado, McClintock et al. (1982), señalo que cuando las ratas machos copulan en un ambiente seminatural donde hay varios machos y varias hembras, los machos aumentan sus series copulatorias.

Los resultados de este estudio también mostraron que la exposición a un nuevo ambiente, como fue la ASMP, no altero la capacidad de las ratas macho para iniciar y llevar a cabo el patrón copulatorio. Los parámetros tales como: LM, LI, NM y NI, no presentaron diferencias significativas de una ASMP comparado con una AT. Pfaus y Wilkins (1995), demostraron que machos sexualmente expertos expuestos a ambientes novedosos no alteran la capacidad para iniciar y llevar a cabo el comportamiento copulatorio.

Posiblemente la razón por la que no encontramos una reducción significativa en los parámetros que evalúan el componente motivacional, como son la LM y en la LI en la ASMP, fue porque al inicio del registro la rata macho reconoce y advierte la presencia de los cuatro redondeles, además de que el macho tiene el momento de elegir a cuatro hembras receptivas. Mientras que, en la AT, puede visualizar su atención en la única hembra que tiene a su disposición y perseguirla más fácilmente.

Como se mencionó en los antecedentes, existen pocos estudios en los que se ha evaluado la conducta sexual de la rata macho, mediante apareamientos simultáneos con más de una rata hembra, ya que tradicionalmente se les aparea con una sola hembra receptiva en una AT (Agmo, 1997). No obstante, existen algunas evidencias que sugieren que la cópula con más de una hembra suele incrementar la extenuación sexual de las ratas macho. Así en 1956, el conductuólogo Larsson comparó la extenuación sexual de 3 machos con 3 hembras receptivas, luego de aparearlos simultáneamente en una misma arena o de aparearlos por parejas individuales en una sola arena. En este estudio Larsson demostró que los apareamientos múltiples sólo incrementaron marginalmente la frecuencia de eyaculación. En cambio McClintock et al. (1982), al analizar apareamientos simultáneos de 2 ratas machos con 5 ratas hembras en condiciones de semicautiverio, encontraron que en los machos se incrementaba las series eyaculatorias cuando varias de las hembras vírgenes entraban en estro simultáneamente, en comparación a cuando sólo una lo hacía.

También en condiciones de saciedad sexual, se ha reportado que el hecho de que el macho tenga acceso a una nueva hembra, incrementa su rendimiento sexual. Por ejemplo, Beach y Jordan (1956) observaron que ratas machos, luego de mantener cinco series copulatorias consecutivas con la misma hembra, al sustituirla con una hembra receptiva sin actividad sexual previa, incrementaron el número de intromisiones que precedieron a la eyaculación, con relación a las realizadas por el macho en la quinta serie copulatoria. De manera semejante, se ha descrito que la rata macho, luego de copular hasta saciedad con una sola hembra receptiva, si al cesar su actividad sexual se le cambia la hembra por una nueva, este es capaz de reiniciar de nuevo la cópula, logrando eyacular un par de veces más. A este fenómeno se le ha denominado “Efecto Coolidge” (Wilson et al. 1963, Rodríguez-Manzo, 1999; Ferreira-Nuño et al. 2002).

En estas condiciones, se ha demostrado que el efecto estimulante y motivacional, que ejerce el cambio de la hembra, sólo ocurre cuando la primera hembra es remplazada por una hembra sin experiencia sexual previa, ya que cuando se substituye con una hembra que ha copulado recientemente, el macho ya no alcanza a eyacular (Fowler y Whalen, 1961); lo anterior demuestra que el macho tiene la capacidad de detectar a una hembra sin actividad sexual, de una que ya tuvo previa experiencia sexual. De hecho el cambio de hembra cada cinco minutos, suele ser una práctica común, cuando los machos son apareados por parejas, para obtener un rendimiento sexual mayor en los machos. Lo anterior, pone de manifiesto el efecto estimulante que tiene para el macho, el tener acceso a más de una hembra.

Por lo tanto, nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores, en el sentido de que el rendimiento sexual del macho se incrementa en presencia de varias hembras, porque aumenta su motivación. No obstante, en el estudio de McClintock y Anisko (1982), mencionado anteriormente, se encontró que durante el primer Periodo Refractario Posteyaculatorio se incrementa significativamente cuando los machos copulan con varias hembras comparado con el PRPE de cuando sólo copulan con una. En cambio en nuestro estudio, encontramos en los resultados una reducción significativa del PRPE en las primeras dos series copulatorias (Fig. 8), cuando las ratas machos fueron evaluadas en el paradigma múltiple de la ASMP, que cuando se aparearon con una sola hembra en la AT. Es posible que los 2 paradigmas, diferentes presentes entre la ASMP de nuestro estudio y las que hubo en las condiciones de semicautiverio del experimento de

McClintock y Anisko (1982), sean determinantes para que el PRPE sea diferente. De tal modo, que la cópula simultánea de ratas macho con varias hembras incrementa la motivación sexual. *Por lo anterior de acuerdo con los resultados obtenidos se sugiere que la ASMP es un buen modelo animal para evaluar el componente motivacional en la rata macho.*

15.2 Selección de Pareja en la Rata Macho Adulta Sexualmente Experta, en la ASMP

Los resultados del presente estudio mostraron que la rata macho pasó mayor tiempo en el compartimento de la hembra que visitó en primer orden, y esta hembra fue también la que recibió mayor número de visitas, intromisiones y eyaculaciones del macho (Fig. 13). En este estudio se demostró que en la ASMP, la rata macho prefiere a la hembra que visitó en primer orden. Estos datos corroboran lo reportado por Snoeren et al. (2014 c), donde la rata macho al ser apareada simultáneamente con tres hembras receptivas, prefiere a la hembra que visitó en primer lugar, al permanecer mayor tiempo con esta hembra y realizar la primera intromisión. Nuestro estudio presentaron algunas aproximaciones al trabajo reportado por Snoeren et al., (2014 c). Sin embargo, debemos de puntualizar que existen varias diferencias metodológicas, que podrían ser responsables en la disparidad algunos resultados, ya que en nuestro estudio son 4 cámaras, donde tanto la rata macho y la hembra pueden coaccionar sexualmente, a diferencia del de Snoeren et al., (2014 c), donde interactúa con tres hembras.

Si bien se cree que la competencia intrasexual para acceder a un compañero es común entre los mamíferos, en ratas silvestres esta competencia es inusual (Barnett, 1984; McClintock, 1984). En las especies donde los machos no compiten por las hembras, la elección de la hembra puede llegar a ser importante, para estimular la reproducción.

En estudios de laboratorio, se ha demostrado que las ratas hembra pasan la mayor parte del tiempo e interactúan sexualmente más con un macho en particular, cuando dos o más machos están disponibles simultáneamente (Ferreira- Nuño et al., 2005; Lovell, et al., 2007; Winland, et al., 2012; Zewail-Foote, et al., 2009; Snoeren, et al., 2014 b). Las ratas macho y hembra, se comportan de manera similar cuando se les permite copular con múltiples parejas al mismo tiempo (Snoeren, et al., 2014 c).

Por otro lado, la rata hembra durante la fase de estro despliega conductas de receptividad y proceptividad. Varios neurocientíficos han demostrado que la hembra participa de manera fundamental en el patrón de apareamiento de esta especie, mediante el despliegue alterno y periódico de estas conductas proceptivas (Erskine, 1989). Nuestros resultados mostraron que la hembra que es visitada en primer orden, es la que despliega con mayor frecuencia estas conductas proceptivas y receptivas (Fig. 13). Sin embargo, estas conductas fueron consecuencia del tiempo de permanencia, la frecuencia de visitas y la actividad sexual entre el macho y la hembra (Fig. 13). No hay sustento en relación de que la cópula este regulada principalmente por la hembra (Bergheim, et al., 2015).

Nuestro estudio demostró que la hembra preferida es con la que el macho tuvo mayor interacción sexual (Fig. 13), además, esta hembra recibió la primera monta, e intromisión y las dos primeras eyaculaciones. Se ha reportado que la interacción sexual tiene efectos recompensantes, así se ha demostrado que la estimulación sexual puede inducir un cambio en la preferencia de lugar condicionada en ratas macho siempre y cuando se pueda inducir un efecto afectivo positivo (Agmo y Berenfeld, 1990; Camacho, et al. 2004). La interacción sexual es recompensante ya que la rata regresa al lugar asociado con el comportamiento sexual, esto es solo si el macho o la hembra regulen la cópula (Camacho, et al. 2004). Lo anterior sugiere, que las conductas copulatorias que realiza el macho con la primera hembra visitada, tienen un efecto gratificante reforzante, que podría explicar por qué razón permanece y copula más con ella que con el resto, tal como fue sugerido por Snoeren et al. (2014 c). Sin embargo, estos datos no son contundentes, por lo tanto, para demostrarlo se tendría que realizar un estudio de preferencia de lugar condicionada.

Otras investigaciones han demostrado que es posible condicionar la elección de pareja tanto en ratas macho y hembra (Kippin et al., 1998; Kippin, et al., 2001; Coria-Avila, et al., 2005). Así, Coria-Avila (2005), demostraron que las ratas hembra en estro desarrollan una preferencia por un macho aromático, si el olor se ha vinculado previamente con experiencias reforzantes de cópula regulada; mientras que Kippin et al., 1998 en su estudio demostró que la elección de pareja de la rata macho por una hembra en particular en presencia de 2 hembras se manifiesta cuando eyaculó por primera vez a la hembra, y señalo que la preferencia eyaculatoria condicionada es un proceso fisiológico determinante en la elección de pareja (Kippin, et al., 1998). Sin embargo, Ismail et al., (2008), señalaron

que la eyaculación por sí sola no es suficiente para que las ratas macho ejecuten una elección de pareja. Por el contrario, las variables contextuales que conforman la disponibilidad o accesibilidad de la hembra pueden ser importantes para el desarrollo de la elección de pareja (Ismail et al., 2008).

Numerosos estudios han demostrado que las señales olfatorias están involucradas en la selección de la pareja sexual en los hurones, hámsters, ratones, ratas y otras especies de mamíferos (Kelliher y Baum, 2001; Portillo y Paredes, 2004; Keller, et al., 2009). En nuestro estudio la rata macho cópula más con la hembra que visita primero (Fig. 13). Sin embargo, al igual que Snoeren et al. (2014 c), nosotros pudimos observar que los olores propios de las hembras, no fueron un factor determinante en la selección de la hembra, ya que no hubo relación significativa entre la hembra que fue preferida por su olor en la prueba olfatoria previa y la que fue visitada primero en la prueba de acceso a la hembra (Fig. 13). Sin embargo, varios estudios han demostrado la capacidad de atracción de los olores de las hembras en ratas macho (Meyerson y Lindstrom, 1973; Krames y Shaw, 1973; Bakker, et al., 1993 a; Keverne, 1999; Agmo, 2003; Keverne, 2004; Rodríguez, 2004; Keller, et al., 2009). En estos estudios, las ratas macho prefieren visitar los olores de hembras sexualmente receptivas que los olores de hembras no receptivas.

Otro aspecto que se determinó en esta Tesis fue la selección de pareja de la rata macho, cuando se aparea en la misma prueba, a un grupo de siete machos con las mismas cuatro hembras en la ASMP, no manifiestan preferencia por una hembra en particular (Fig. 16). Con los resultados obtenidos en esta Tesis, se demostró que una hembra no es preferida por varios machos. Lo anterior confirma lo planteado por Snoeren et al. (2014) que si bien en la ASMP los machos muestran un interés particular por la hembra que visita primero, esta es una preferencia individual y no colectiva.

Por otro lado, el hecho de que tanto la rata hembra como el macho muestren una preferencia por el compañero con el que interactúan primero, podría representar una ventaja reproductiva en relación a los demás miembros del grupo con los que están copulando, siempre y cuando el macho que fecunda primero a una hembra, dejara más descendencia (Lovell, et al., 2007). En otro estudio, se ha demostrado que las "preferencias" de las ratas hembras no tienen consecuencias en la fertilidad. Por ejemplo, Zewail-Foote et al, (2009), encontró que los machos preferidos no mostraron una ventaja

reproductiva significativa con respecto a los machos no preferidos. Los machos preferidos tuvieron, en promedio, 5.75 ± 1.6 crías, mientras que los machos no preferidos 4.25 ± 1.3 crías (Zewail-Foote et al., 2009). En otro estudio, los machos preferidos sistemáticamente engendraron aún menos crías que los machos no preferidos (Winland, et al., 2012). Esto sugiere, que la razón de las continuas visitas de la hembra por el macho preferido o de la primera entrada no está relacionada con el rendimiento reproductivo. Además, se ha reportado que ratas que copulan en grupo (machos y hembras) en un ambiente seminatural, y aquellos que se consideran los “machos preferidos” engendran un menor número de crías (Chu, et al., 2015).

Al parecer se requieren más estudios para comprender a que obedece esta preferencia que muestran las ratas tanto machos como hembras por la primer pareja con la que se involucran en la ASMP. Estudios recientes han demostrado que las ratas al parecer tienen la habilidad de aprender tanto estrategias de apareamiento polígamas o monógamas, dependiendo de las condiciones ambientales en las que ocurran dichas experiencias sexuales iniciales con efectos recompensantes (Ismail et al. 2009). Aunado a lo anterior Pfaus et al. (2003) han propuesto que las condiciones ambientales en las que se aparee la rata (semicautiverio, arenas múltiples, arenas cerradas tradicionales, arenas de dos niveles, etc.), pueden modificar la expresión de la conducta sexual. Por ejemplo, en las arenas de selección múltiple, uno de los factores que posiblemente permiten que las actividades copulatorias del macho tengan un efecto reforzante, que se manifiesta en la preferencia sobre la hembra que visitan primero, es el hecho de que en la ASMP, las hembras no tienen la posibilidad de competir con la hembra en turno con la que está copulando el macho en un momento dado, debido a que no pueden abandonar su cámara, por estar atadas del cuello (Fig. 2).

En cambio, en condiciones de semicautiverio, se ha observado que cuando varias hembras entran en celo, compiten entre ellas por un mismo macho, lo que impide que una determinada pareja, se mantenga copulando por un largo tiempo (McClintock y Anisko, 1982; McClintock et al. 1981 a y b), aspecto que no se presenta en la ASMP.

Por lo tanto, existe la posibilidad de que la preferencia que ambos sexos muestran por la pareja que visitan primero, sólo se presente en las condiciones de las arenas de selección

múltiple, probablemente porque las hembras se encuentran sujetas y no pueden salir de las cámaras de acrílico (Fig. 2).

Desde otro punto de vista, Snoeren et al. (2014 c) luego de demostrar que ni el aroma ni las vocalizaciones que emiten las hembras, influyen en la selección de pareja de la rata macho, han propuesto que la elección que muestran por la primera hembra con la que tienen contacto en una ASMP, es azarosa. Sin embargo, aún no se evalúa el papel que podría estar jugando el Complejo de Mayor Histocompatibilidad (CMH) en la selección de pareja en la rata. Por ejemplo, en ratones se ha demostrado que las señales olfatorias asociadas con el CMH influyen selectivamente en la selección de pareja (Jassen y Zavazava, 1999). Por medio de estas señales, los ratones suelen preferir a aquellas parejas sexuales que tienen una mayor diferencia genética, con las cuales eligen copular y así evitar la infertilidad asociada a la endogamia. A pesar de que el papel del CMH en los fenómenos de selección de pareja, han sido demostrados en muchas especies de vertebrados (Milinski, 2006), aún no se comprueban este mecanismo de histocompatibilidad, en la rata. En consecuencia, sería determinante y primordial el comprobar si la preferencia que muestran las ratas por la primera pareja con la que interactúan o visitan en una ASMP, pudiera estar relacionada con las características de este Complejo.

16. CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestros resultados podemos concluir que la conducta sexual masculina de la rata macho que se expresa en una AT, se modifica cuando este tiene la oportunidad de copular simultáneamente con varias hembras en una ASMP, al reducirse significativamente en algunos parámetros que evalúan el componente motivacional, como son el intervalo inter-intromisión y el periodo refractario post-eyaculatorio. A su vez, el efecto sobre estos parámetros, repercute en otros, como la latencia de eyaculación y la frecuencia de eyaculación, produciendo una reducción significativa la LE y un incremento en la FE.

En relación a la selección de pareja, nuestros resultados confirman lo obtenido por Snoeren et al. 2014, en el sentido de que en las condiciones de una ASMP, los machos prefieren copular con la hembra que visitan primero. El hecho de permanecer significativamente más tiempo con ella y visitarla más veces, permite que ésta sea la que

reciba más intromisiones y eyaculaciones por parte del macho y, a su vez, ella pueda desplegar un mayor número de conductas paracopulatorias. Por lo tanto, es posible que el valor reforzante que produce en el macho la expresión de sus conductas copulatorias (montas, intromisiones y eyaculaciones) con la hembra que visita primero en la ASMP, sean los principales factores que mantienen la preferencia por esta hembra, a lo largo de la prueba. Al igual que Snoeren et al. 2014, concluimos también, con base en nuestros resultados, que el olor de la hembra (atractividad), no es un factor importante para el macho, en la selección de la hembra que visita primero en la ASMP. Por lo tanto, al igual que estos investigadores sugerimos que esta selección puede ser azarosa. Es posible que la preferencia que el macho mostró por la hembra que visitó primero en la ASMP, sea un patrón generado por las condiciones propias de la arena, más que un patrón típico de la especie que se expresa en cualquier condición ambiental. Consideramos, que el hecho de que hayan estado sujetas las hembras en la ASMP, les impidió competir por el macho, como sucede en condiciones naturales y seminaturales. Sin embargo, se requiere de muchos más estudios para poder corroborarlo.

Asimismo, podemos concluir que cuando a un grupo de machos se les pone a copular el mismo día, con las mismas hembras receptivas en una ASMP, no muestran una marcada preferencia por una de ellas, lo que demuestra que la selección que cada macho hace por la hembra que visita primero, es una característica individual más que colectiva.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adkins-Regan, E. (1988). Sex hormones and sexual orientation in animals. *Psychobiology*, 16: 347-355.
2. Adkins-Regan, E., Mansukhani, V., Thompson, R., Yang, S. (1997). Organizational actions of sex hormones on sexual partner preference. *Brain Research Bulletin*, 44: 497-502.
3. Adkins-Regan, E. (1998). Hormonal Mechanisms of Mate Choice. *Amer Zool*, 38: 166-178.
4. Agmo, A., Berenfeld, R. (1990). Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behav Neurosci*, 104: 177-182.
5. Agmo, A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Res Protoc*, 1: 203-209.
6. Agmo, A. (1999). Sexual motivation – an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behav Brain Res*, 105: 129-150.
7. Agmo, A., Soria, P. (1997). GABAergic drugs and sexual motivation, receptivity and exploratory behaviors in the female rat. *Psychopharmacol*, 129: 372-381.
8. Agmo, A. (2003). Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*, 117: 3-14.
9. Alder, N. T. (1983). The neuroethology of reproduction. In J. Ewert, R. Capranica, and D. Ingle (Eds.), *Adv Vertebrate Neuroethology*, Plenum, New York. pp. 1033-1061.
10. Andersson, M. B. (1994). *Sexual Selection*. Princeton University Press.
11. Andersson, M., Iwasa, Y. (1996). Sexual selection. *TREE*, 11:53-58.
12. Andersson, M., Simmons, L. W. (2006). Sexual selection and mate choice. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 21: 296- 302.
13. Bakker, J. (2003). Sexual Differentiation of the Neuroendocrine Mechanisms Regulating Mate Recognition in Mammals. *J Neuroendocrinol*, 15: 615- 621.
14. Bakker, J. (2003). Sexual Differentiation of the Neuroendocrine Mechanisms Regulating Mate Recognition in Mammals. *J Neuroendocrinol*, 15: 615- 621.
15. Bakker, J., van Ophemert, J. y Slob, A. K. (1993a). Organization of Partner preference and Sexual Behavior and Its Nocturnal Rhythmicity in Male Rats. *Behav Neurosci*, 107 (6): 1049-1058.
16. Bakker, J., Brand, T., Ophemert, J. y Slob A. K. (1993b) Hormonal Regulation of Adult Partner Preference Behavior in neonatally ATD-Treated Male Rats. *Behav Neurosci*, 107: 480- 487.
17. Bakker, J., Van Ophemert, J. y Slob, A. K. (1996). Sexual Differentiation of odor and partner Preference in the Rat. *Physiol Behav*, 60 (2): 489-494.
18. Barfield R. J., Thomas D. A. (1986). The role of ultrasonic vocalization in the regulation of reproduction in rats. *Ann N. Y. Acad Sci*, 447: 33-43.
19. Barnett, S. A. (1975). *The rat: a study in behavior*. Chicago: University of Chicago Press, 2 (2): 164-165.
20. Baum, M. J. (1979). Differentiation of coital behavior in mammals: A comparative analysis. *Neurosci Biobehav Rev*, 3: 265-284.

21. Beach, F. A. (1943). Effects of injury to the cerebral cortex upon the display of masculine and feminine mating behavior by female rats. *J Comp Psychol*, 36: 169-198.
22. Beach, F. A. (1947). Evolutionary changes in the physiological control of mating behavior in mammals. *Psychol Rev*, 54: 279-315.
23. Beach F. A. y Jordan L. (1956). Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 8: 121-133.
24. Beach F. A. y Ransom T. W. (1967). Effects of environmental variation on ejaculatory frequency in male rats. *J Comp Physiol Psychol*, 64: 384-387.
25. Beach F. A. (1967). Cerebral and hormonal control of reflexive mechanisms involved in copulatory behavior. *Physiol. Rev.*, 47: 289 - 316.
26. Beach F. A. (1976). Sexual Attractivity, Proceptivity, and Receptivity in Female Mammals. *Horm Behav*, 7: 105-138.
27. Beatty, W. W. (1992). Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behavior. In A. A. Gerall, H. Moltz, y L. L. Ward (Eds.), *Handbook of behavioral biology* (Vol. 11, pp. 85-128). New York: Plenum Press.
28. Bergheim, D., Chu, X, Agmo, A. (2015). The function and meaning of female rat paracopulatory (proceptive) behaviors. *Behav Processes*, 118: 34-41.
29. Bermant, G. (1961). Response latencies of female rats during sexual intercourse. *Science*, 33: 1771-1773.
30. Bermant, G., Westbrook, W.H. (1966). Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *J. Comp. Physiol. Psychol*, 61: 244-250.
31. Beyer, C. (1976). Neuroendocrine mechanisms in sexual behavior, En: Naftolin F, Ryan, K. J., Davies, I. J. (eds.) *Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology*. Elsevier, Amsterdam, pp: 741-483.
32. Bialy, M., Rydz, M., Kaczmarek, L. (2000). Precontact 50-kHz vocalization in the male rats during acquisition of sexual experience. *Behav Neurosci*, 114: 85-92
33. Birkhead T, Moller A. (1998). *Sperm competition and sexual selection*. San Diego: Academic Press Ltd.
34. Blaustein, J. D. Erskine, M. S. (2002). Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and efferent information in the rodent forebrain. In: Pfaff, D. W., Arnild, A. P., Etgen, A. M., Fahrbach, S. E., Rubin, R. T. (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior*, Academic Press, New York, pp. 139-214.
35. Brand, T., Kroonen, J., Mos, J., Slob, A. K. (1991 a). Adult partner preference and sexual behavior of male rats affected by perinatal endocrine manipulations. *Horm Behav*, 25: 323-341.
36. Brand, T., Slob, A. K. (1991 b). Neonatal organization of adult partner preference behavior in male rats. *Physiol Behav*, 49: 107-111.
37. Britan, D., Hull, E. M. (1987). *Pharmacological Analysis of Male Rat Sexual Behavior*. *Neurosci Biobehav Rev*, 11: 365-389.
38. Brown, RE. (1979). Mammalian social odors: a critical review. *Adv Study Behav*, 10: 103-162.

39. Broekman, M., de Bruin, M., Smeenk, J., Slob, A.K., van der Schoot, P. (1988). Partner preference behavior of estrous female rats affected by castration of tethered male incentives. *Horm. Behav*, 22: 324-337.
40. Brudzynski, S. M. (2005). Principles of rat communication: quantitative parameter of ultrasonic calls in rat. *Behav Genet*, 35: 85-92.
41. Calhoun, J.B. (1962). The ecology and sociobiology of the Norway rat. U.S. Public Health Service Publication, vol. 1008. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
42. Camacho, F., Sandoval, C., Paredes R. G. (2004). Sexual experience and conditioned place preference in male rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 74: 419-425.
43. Chu, X., Agmo, A. (2015). Sexual behaviors during the transition from non-receptivity to receptivity in rats housed in a seminatural environment. *Behav Processes*, 113: 24-34.
44. Chu, X., Guarraci, F. A., Agmo, A. (2015). Sociosexual behaviors of male rats (*Rattus norvegicus*) in a seminatural environment. *J Comp Psychol*, 129: 1332-144.
45. Clark, A. S., Pfeifle, J. K., Edwards, D. A. (1981). Ventromedial hypothalamic damage and sexual proceptivity in female rats. *Physiol Behav*, 27: 597-602.
46. Clutton-Brock, T. H. (1989). Mammalian mating system. *Proc. R. Soc. Lond., B* 236: 339- 372.
47. Clutton-Brock, T. H., Vincent, A. C. J. (1991). Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. *Nature*, 351: 58-60.
48. Coria-Avila, G., Ouimet, A. J., Pacheco, P., Manzo, J., Pfaus, J.G. (2005). Olfactory Conditioned Partner Preference in the Female Rat. *Behav Neurosci*, 119 (3): 716-725.
49. Cummings, J. A. y Backer, J. B. (2012). Quantitative assessment of female sexual motivation in the rat: Hormonal control of motivation. *J Neurosci Meth*, 204: 227-233.
50. Darwin, C. (1971). Principles of sexual selection. In Murray, J. (Ed.), *The descent of man, and selection in relation to sex*. Princeton, New Jersey. pp. 253- 320.
51. De Jonge, F.H., van de Poll, N.E. (1986). On the involvement of progesterone in sexually rewarded choice behavior of the female rat. *Physiol. Behav.* 37, 93-98.
52. Edwards, D.A., Pfeifle, J.K. (1983). Hormonal control of receptivity, proceptivity and sexual motivation. *Physiol. Behav*, 30: 437-443.
53. Endries, M. J. y Adler, G. H. (2005). S pacing patterns of a tropical forest rodent, the spiny rat (*Proechimys semispinosus*), in Panama. *J Zool (London)*, 265: 147-155.
54. Erskine, M.S. (1985). Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and ovariectomized–adrenalectomized hormone-primed rats. *Behav. Neurosci*, 99: 151-161.
55. Erskine, M.S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Horm. Behav*, 23: 473-502.
56. Erskine, M. S., Kornberg, E., Cherry J. A. (1989). Paced copulation in rats: effects of intromission frequency and duration on luteal activation and estrus length. *Physiol Behav*, 45: 33-39.

57. Ferreira- Nuño, A. (2002). Caracterización de la Conducta Sexual Masculina en la línea de Ratas Flinders con Hipersensibilidad Colinérgica. (Tesis doctoral inédita). Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana.
58. Ferreira-Nuño, A., Overstreet, D. H., Morales-Otal, A., Velázquez-Moctezuma, J. (2002). Masculine sexual behavior features in the Flinders sensitive and resistant line rats. *Behav Brain Res*, 128: 113-119.
59. Ferreira-Nuño A., Morales Otal A., Paredes R. G. y Velázquez Moctezuma J. (2005). Sexual behavior of female rats in a multiple-partner preference test. *Horm Behav*, 47: 290-297.
60. Ferreira-Nuño, A., Fernández-Soto, C., Olayo-Lortia, J. Ramirez-Carretero, R., Paredes, R. G., Velázquez-Moctezuma, J., Morales-Otal, A. (2010). Copulatory Pattern of Male Rats in a Multiple Partner. *J Sex Med*, 7: 3845-3856.
61. French, D., Fitzpatrick, D., Law, O. T. (1972). Operant investigation of mating preference in female rats. *J Comp Physiol Psychol*, 24: 77-87.
62. Fowler, H., Whalen, R. E. (1961). Variation in incentive stimulus and sexual behavior in the male rat. *J Comp Psychol*, 54: 68-71.
63. Galef, Jr. B. G., Terence, C. W. L., Goeffrey, S. G. (2008). Evidence of mate choice copying in Norway rats, *Rattus norvegicus*. *Anim Behav*, 75: 1117-1123.
64. García-Horsman P., Paredes, R. G. (2004). Dopamine do not block conditioned place preference induce by paced mating behavior in female rats. *Behav. Neurosci*, 118: 356-364.
65. García-Juárez, M., Beyer, C., Gómora Arrati, P., Domínguez Ordoñez, R., Lima Hernández F. J., Eguibar J. R., Galicia Aguas Y. L., Etegen A. M, Gonzáles Flores O. (2013). Lordosis facilitation by leptin in ovariectomized, estrogen-primed rats requires simultaneous or sequential activation of several protein kinase pathways. *Pharmacol Biochem Behav*, 110: 13-18.
66. Gans, S., Erskine, M.S. (2003). Effects of neonatal testosterone treatment on pacing behaviors and development of a conditioned place preference. *Horm Behav*, 44: 354-364.
67. Gilman, D. P., Hitt, J. C. (1978). Effects of gonadal hormones on pacing of sexual contacts by female rats. *Behavi Biol*, 24(1): 77-87.
68. Goy, R. W., McEwen, B. S. (1980). Sexual differentiation of the brain (based on a work session of the neurosciences research program). Cambridge, MA: MIT Press.
69. Hardy, D. F., DeBold, J. F. (1971). The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. *Horm Behav*, 2: 287-297.
70. Henley, C. L., Nunez, A. A., Clemens, L. G. (2011). Hormones of choice: The neuroendocrinology of partner preference in animals. *Front Neuroendocrinol*, 32: 146-154.
71. Hlinak, Z. (1983). Precopulatory behavior of male laboratory rats in puberty and adulthood. *Activ Nerv Sup*, 25: 180-181.
72. Hlinak, Z. (1986). Precopulatory behavior of laboratory rat: an ethological approach. *Activ Nerv Sup*, 28: 108-116.

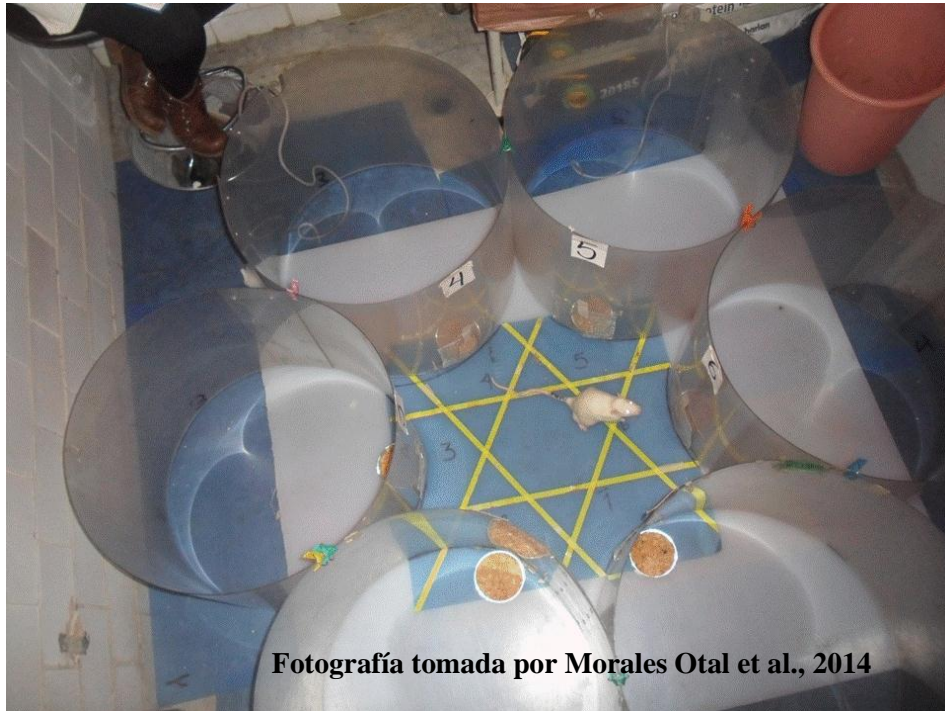
73. Ismail, N., Zhao, Y., Pfaus J. G. (2008). Context-dependent acquisition of copulatory behavior in the male rat: role of female availability. *Behav Neurosci*, 122: 991-997.
74. Ismail, N., Gelez, H., Lachapelle, I., Pfaus, J. G. (2009). Pacing conditions contribute to the conditioned ejaculatory preference for a familiar female in the male rat. *Physiol Behav*, 96: 201-208.
75. Janssen E, Zavazava N. (1999). How does the major histocompatibility complex influence behavior. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 47(3):139-42
76. Keller, M., Baum, M. J., Brock, O, Brennan, P. A., Bakker, J. (2009). The main and the accessory olfactory systems interact in the control of mate recognition and sexual behavior. *Behav Brain Res*, 200: 268-276.
77. Kelliher K. R. y Baum M. J. (2001). Nares occlusion eliminates heterosexual partner selection without disrupting coitus in ferrets of both sexes. *J Neurosci*, 21: 5832- 5840.
78. Keverne E. B. (1999). The vomeronasal organ. *Science*, 286:716-720.
79. Keverne E. B. (2004). Importance of olfactory and vomeronasal system for male sexual function. *Physiol Behav*, 83: 177-187.
80. Kippin, T. E., Talinakis, S., Schattmann, L., Bartholomew, S., Pfaus, J. G. (1998). Olfactory conditioning of sexual behavior in the male rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*, 112: 389-399.
81. Kippin, T. E., Sahama A. N., Sotiropoulos, V., Pfaus J. G. (2001). The development of olfactory conditioned ejaculatory preferences in the male rat: II. Parametric manipulation of conditioning session number and duration. *Physiol Behav*, 73: 471-485.
82. Krames, L. Shaw, B. (1973). Role of previous experience in the male rat's reaction to odors from group and alien conspecifics. *J Comp Psychol*, 82: 444-448.
83. Krieger, M. S., Orr, D., Perper, T. (1976). Temporal patterning of sexual behavior in the female rat. *Behav Biol*, 18 (3): 379-386.
84. Larsson, K. (1956). *Conditioning and Sexual Behaviour in the Male Albino Rat*. Stockholm: Almqvist y Wiksell.
85. Lovell, J. L., Diehl A., Joyce, E., Cohn, J., Lopez, J., Guarraci, F.A. (2007). "Some guys have all the luck": mate preference influences paced-mating behavior in female rats. *Physiol Behav*, 90: 537-544.
86. Madlafousek, J., Hlinak, Z., Beran, J. (1976). Decline of sexual behavior in castrated male rats: Effects of female precopulatory behavior. *Horm Behav*, 7: 245-252.
87. Madlaffousek, J., Hlinak, Z. (1977). Sexual behavior of the female laboratory rat: Inventory, patterning, and measurement. *Behav*, 63: 129-174.
88. Matthews, T.J., Grigore, M., Tang, L., Doat, M., Kow, L.M., Pfaff, D.W. (1997). Sexual reinforcement in the female rat. *J Exp Anal Behav*, 68: 399-410.
89. Martínez, I., Paredes, R. G. (2001). Only self-paced mating is rewarding in rats of both sexes. *Horm Behav*, 40: 510-517.

90. Meisel, R. L., Sachs, B. D. (1994). The Physiology of male sexual behavior. *In physiology of Reproduction* (E. Knobil, and J. D. Neill, Eds.), pp. 3-106. Raven Press, New York.
91. Meredith M. (2001). Human Vomeronasal Organ Function: A Critical Review of Best and Worst Cases. *Chem Senses*, 26: 433-445.
92. Meyerson, B. J., Lindstrom, L. H. (1973). Sexual motivation in the female rat: A methodological study applied to the investigation of the effect of estradiol benzoate. *Acta Physiol Scand. Suppl*, 389: 1-80.
93. McClintock, M. K., Adler, N. T. (1978). The role of the female during copulation in wild and domestic Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Behav*, 67: 67-96.
94. McClintock, M. K. (1981 a). Behavioral control of the ovarian cycle and the function of estrous synchrony. *Am Zool*, 21: 243-256.
95. McClintock, M. K. (1981 b). Simplicity from complexity: a naturalistic approach to behavior and neuroendocrine function. In: *New Directions for Methodology of Social and Behavioral Science* (Ed. By I. Silberberg), San Francisco: Jossey-Bass, 8:1-19.
96. McClintock, M. K., Anisko, J. J. (1982). Group mating among Norway Rats. I. Sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation. *Anim Behav*, 30: 398-409.
97. McClintock, M. K., Anisko, J. J., Adler, N. T. (1982). Group mating among Norway rats: II. The social dynamic of copulation: competition, cooperation and mate choice. *Anim Behav*, 30: 410-425.
98. McClintock, M. K. (1984). Group mating in the domestic rat as a context for sexual selection: consequences for the analysis of sexual behavior and neuroendocrine responses. *Advances in the study of behavior*. New York: Academic Press: 1-50.
99. Milinski, M. (2006). The Major. Histocompatibility. Complex, Sexual Selection, and Mate Choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37:159–86
100. Moralí, G., Carrillo, L., Beyer, C. (1985). Neonatal androgen influences sexual motivation but not the masculine copulatory motor pattern in the rat. *Physiol Behav.*, 34(2): 267-275.
101. Olivier, B., Chan, J. S. W., Pattij, T., de Jong, T. R., Oosting, R. S., Veening, J. G., Waldinger, M. D. (2006). Psychopharmacology of male rat sexual behavior: modeling human sexual dysfunctions? *Int J Impot Res*, 18: S14-S23.
102. Paredes, R.G., Alonso, A. (1997). Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behav Neurosci*, 111: 123-128.
103. Paredes, R. G., Martinez, I. (2001). Naloxona blocks place preference conditioning after paced mating in female rats. *Behav Neurosci*, 111: 1363-1367.
104. Paredes, R. G., Vázquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behav Brain Res*, 105, 117-127.
105. Peirce, J.T., Nuttall, R.L. (1961). Self-paced behavior in the female rat. *J. Comp Physiol Psychol*, 54, 310-313.
106. Pfaus, J. G., Wilkins, M. F. (1995). A novel environment disrupts copulation in sexually naïve but not experienced male rats. *Physiology & Behavior*, 57: 1045-1049.

107. Pfaus, J. G., Smith, W. J., Coopersmith, C. B. (1999). Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats in bilevel chambers, II. Patterns of estrus termination following vaginocervical stimulation. *Horm Behav*, 35, 224-240.
108. Pfaus J. G., Kippin T. E., Coria-Avila, G. (2003). What can animal models tell us about human sexual response? *Annu Rev Sex Res*.14:1-63.
109. Pfeifle, J. K., Edwards, D. A. (1983). Midbrain lesions eliminate sexual receptivity but spare sexual motivation in female rats. *Physiol Behav*, 31: 385-389.
110. Phoenix, C. H., Goy, R. W., Gerall, A. A., Young, W. C. (1959). "Organizing Action of Prenatally Administered Testosterone Propionate on the Tissues Mediating Mating Behavior in the Female Guinea Pig". *Endocrinol*, 65 (3): 369-382
111. Portillo W. M., Paredes, R. G. (1998). Control neural de la conducta sexual masculina (ed. Velázquez Moctezuma, J.). *Biología de la Reproducción*. Universidad Autónoma Metropolitana México. Cap. 13: 334-364.
112. Portillo, W., Paredes, R. G. (2004). Sexual incentive motivation, olfactory preference, and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Hormones and Behavior*, 46: 330-340.
113. Robitaille, J. A., Bouvet J. (1976). Field observations on the social behaviour of the Norway rat, *Rattus norvegicus* (Berkenhout). *Biol Behav*, 1: 289-308.
114. Rodríguez-Manzo, G. (1999). Blockade of the establishment of the sexual inhibition resulting from sexual exhaustion by the Coolidge effect. *Behav Brain Res*, 100: 245-254.
115. Rodríguez, I. (2004). Pheromone receptor in mammals. *Horm Behav*; 46: 219-230
116. Sachs, B. D. y Barfield R. J. (1970). Temporal patterning of sexual behavior in the male rat. *J Comp Physiol Psychol*, 73: 359-364.
117. Singh, P. B., Brawn, R. E., Roser, B. (1987). MHC antigens in urine as olfactory recognition cues. *Nature*, 327: 161- 164.
118. Snoeren, E. M. y Agmo, A. (2013). Female Ultrasonic Vocalizations Have No Incentive Value for Male Rats. *Behavioral Neuroscience*, 127: 439-450
119. Snoeren, E. M. y Agmo, A. (2014 a). The Incentive Value of Males' 50-kHz Ultrasonic Vocalizations for Female Rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*, 128: 40-55.
120. Snoeren, E. M., Agmo, A. (2014 b). The role of odors and ultrasonic vocalizations in female rat (*Rattus norvegicus*) partner choice. *J Comp Psychol*, 96: 98-103.
121. Snoeren, E. M., Helander, L. R., Iversen, E. E., Agmo, A. (2014c). On the role of individual differences in female odor and ultrasonic vocalization for male's choice of partner. *Physiol Behav*, 132: 17-23.
122. Vasey, P. L. (2002). Same-sex sexual partner preference in hormonally and Neurologically Unmanipulated animals. *Ann Rev Sex Res*, 13: 141-179.
123. Trivers, R. L. (1972). Parental investment and sexual selection. In *Sexual Selection and the Descent of Man 1871-1971* (Campbell, B., ed.), Heinemann. United States of America. pp. 136- 179.

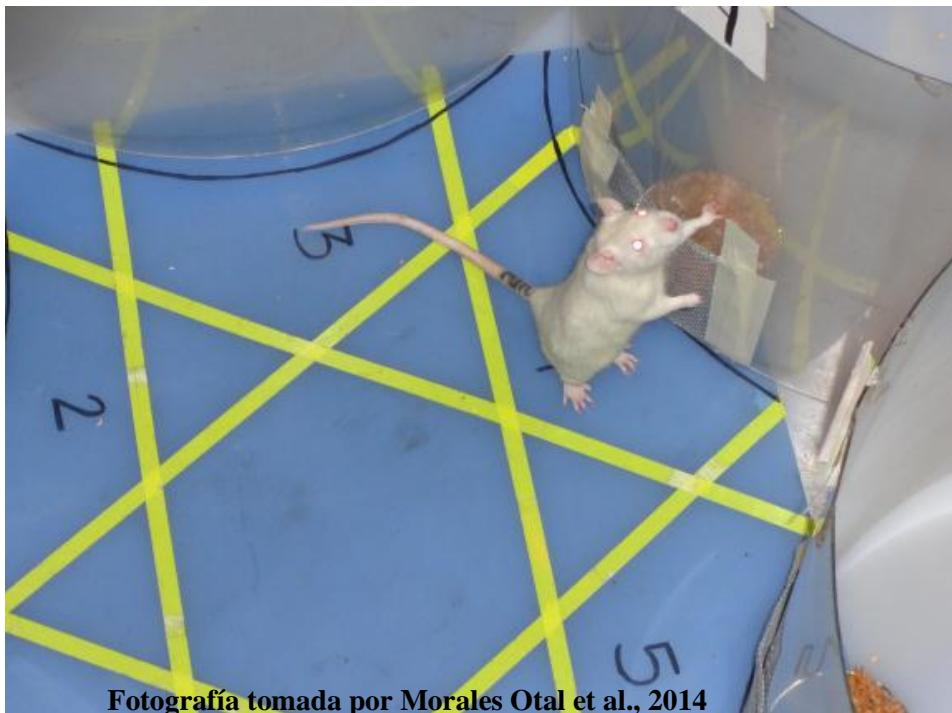
124. Vandenberg, J. G. (1994). Pheromones and mammalian reproduction. In: Knobil B. Neill JD, eds. *Physiology of Reproduction*, Third Edition. New York: Raven Press, 1994: 2041- 2058.
125. Waldinger, M. D. (2003). Towards evidence-based drug treatment research on premature ejaculation: a critical evaluation of methodology. *International Journal of Impotence Research*, 15: 309-313.
126. Winland, C., Bolton, J. L., Ford, B., Jampana, S., Tinker, J., Frohardt, R.J., Guarraci, F. A. y Zewail-Foot, M. (2012). “Nice guys finish last”: Influence of mate choice on reproductive success in Long-Evans rats. *Physiol Behav*, 105: 868-876.
127. Wilson, J. R., Kuehn, R. E., Beach, F. A. (1963). Modification in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female. *J Comp Physiol Psychol*, 56: 636-644.
128. Yamazaki, K., Boyse, E. A., Mike, V., Thaler, H. T., Mathieson, B. J., Abbott, J., Boyse, J., Zayas, Z. A., Thomas, L. (1976). Control of mating preferences in mice by genes in the major histocompatibility complex. *J Exp Med*, 144: 1324-1335.
129. Zewail-Foote, M., Benson, A., Lee, H., Guarraci, F. A. (2009). Reproductive success and mate choice in Long-Evans rats. *Physiol Behav*, 96: 98-103.

18. ANEXOS



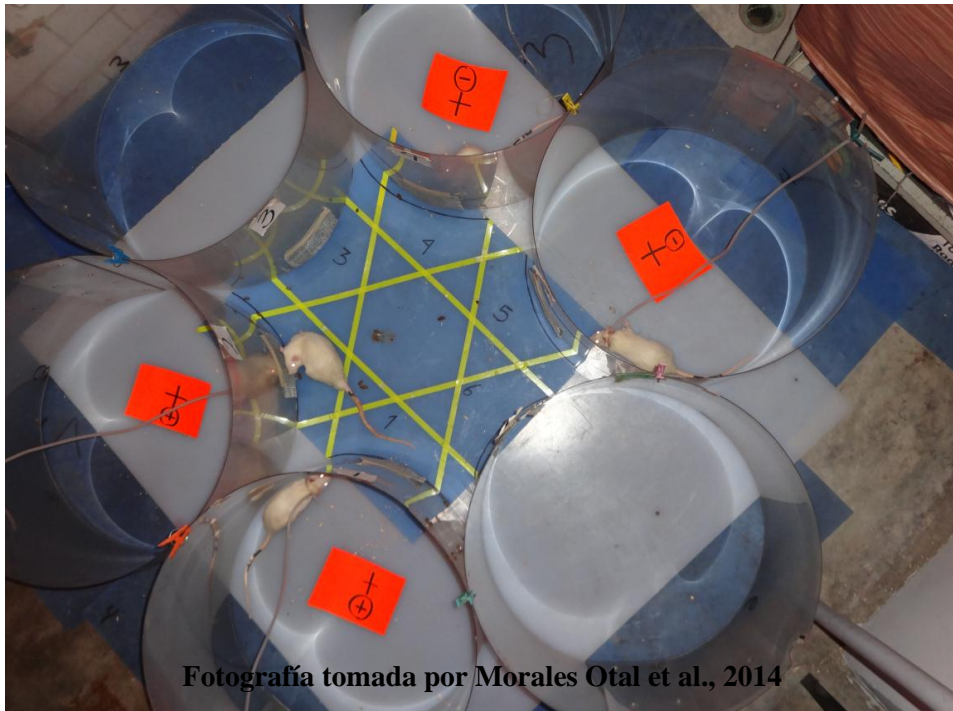
Fotografía tomada por Morales Otal et al., 2014

Fotografía 1. Prueba de preferencia olfatoria de las hembras en la ASMP

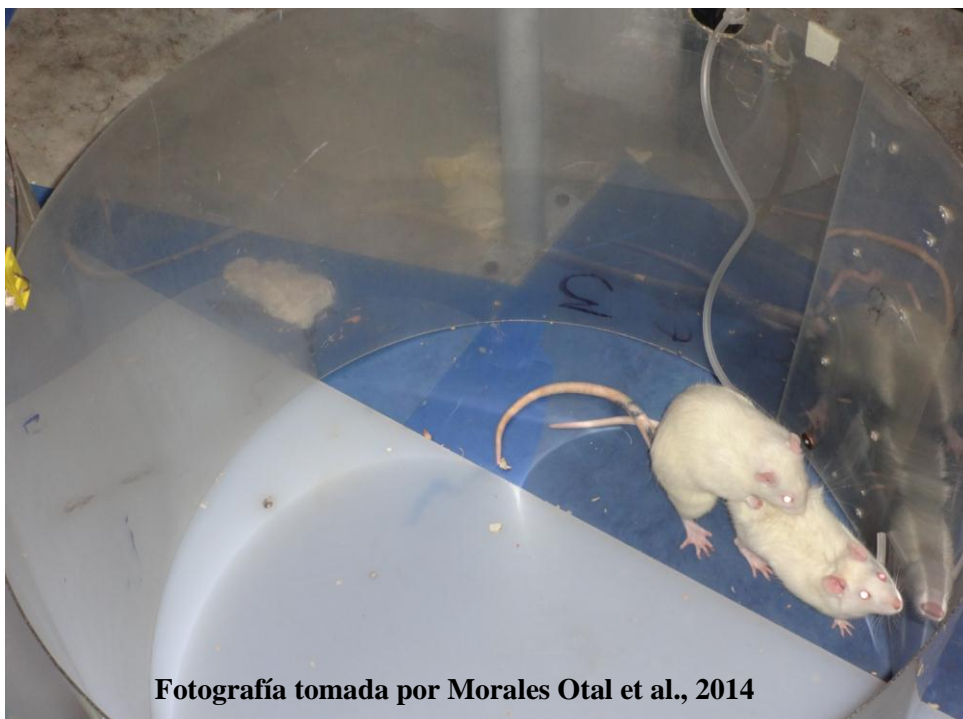


Fotografía tomada por Morales Otal et al., 2014

Fotografía 2. La rata macho dentro del área incentiva en la ASMP



Fotografía 3. *Las ratas hembra sujetas con un cinturón de plástico y el macho en sus 5 min de habituación en la ASMP*



Fotografía 4. *Interacción Sexual entre el macho y la hembra en la ASMP*