



AUTOR: **FELIPE ALONSO**

DIRECTOR: **DR. MATÍAS PANDOLFI**

Comportamiento y fisiología del control social de la reproducción en el pez cíclido *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840)

Laboratorio de Neuroendocrinología y Comportamiento
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires



Los siguientes trabajos fueron realizados durante el desarrollo de la presente tesis de licenciatura:

TRABAJOS PUBLICADOS

Alonso F, Honji RM, Renata Guimarães Moreira R, Pandolfi M. 2012. Dominance hierarchies and social status ascent opportunity: Anticipatory behavioral and physiological adjustments in a Neotropical cichlid fish. *Physiology and Behavior*. doi:10.1016/j.physbeh.2012.04.003

Alonso F, Cánepa M, Guimarães Moreira R, Pandolfi M. 2011. Social and reproductive physiology and behavior of the social cichlid fish *Cichlasoma dimerus* under laboratory conditions. *Neotropical Ichthyology*. 9(3): 559-570.

Pandolfi M, Cánepa MM, Meijide FJ, **Alonso F**, Vázquez GR, Maggese MC y Vissio PG (2009). Studies on the reproductive and developmental biology of *Cichlasoma dimerus* (Perciformes, Cichlidae). Review. *Biocell* 33(1): 1-18.

ASISTENCIA A CONGRESOS CON PRESENTACIÓN DE TRABAJOS

Alonso F, Pandolfi M (2010). Oportunidad de ascenso de estatus social: adecuaciones comportamentales y fisiológicas previas. *XII Jornadas Anuales de la Sociedad Argentina de Biología*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Resúmenes p. 28

Alonso F, Pandolfi M. (2009). Reproductive hierarchy dynamics in males of the cichlid fish *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. *First Joint Meeting of the Argentine Society for Neurosciences (SAN) and the Argentine Workshop in Neurosciences (TAN)*. Huerta Grande, Córdoba. Resúmenes p. 245.

Alonso F, Quagio Grassiotto I, Pandolfi M (2009). Comportamiento Social y Reproductivo de *Cichlasoma dimerus* (Perciformes; Cichlidae) en Cautiverio. *XVIII Encontro Brasileiro de Ictiología*.

Alonso F, Canepa MM, Lo Nostro FL, Maggese MC, Pandolfi M (2007). *Cichlasoma dimerus*: a fish model for studying stress and social control of reproduction. NS-P03. *Biocell*, Vol 31 (Suppl): pp 153.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis de licenciatura está dedicada a la memoria del ex Presidente Argentino, Dr. Néstor Kirchner por haber recuperado, a través de políticas activas e inversión, la calidad de la ciencia y la educación en la Argentina; por promover la integración americana y la justicia social.

Al Estado de la Nación argentina por brindarme a través de la Universidad de Buenos Aires la posibilidad de tener una formación de excelencia y gratuita y haberme otorgado una beca de investigación que me ayudó a realizar la presente tesis de licenciatura. Espero poder retribuirle al Pueblo de la Nación Argentina mi formación a través de mi desempeño como docente e investigador.

A mi director, Matías Pandolfi, por haberme guiado y enseñado pacientemente a lo largo de esta tesis y haber puesto a mi disposición todos los elementos necesarios para la realización de la misma.

A todos los compañeros del laboratorio por su buena predisposición, ayuda y asesoramiento cada vez que lo necesité y por el tiempo compartido.

A mi familia, por el apoyo económico y moral recibido durante estos años, sin los cuales no hubiera podido realizar esta carrera y por lo que les estaré siempre agradecido.

A mi novia, Estefanía di Pasquo y a su familia por todo el apoyo que siempre me brindaron.

A Florencia Sola por las pertinentes y valiosas sugerencias y aportes al diseño de la presente tesis.

A Pablo Calviño e Ignacio García por las charlas, comentarios, sugerencias, por los viajes de pesca y el tiempo compartido en estos años.

"He aquí mi secreto, que no puede ser más simple: sólo con el corazón se puede ver bien; lo esencial es invisible para los ojos."
Antoine de Saint-Exupéry (1943, "El Principito")

INDICE

TRABAJOS PUBLICADOS.....	1
ASISTENCIA A CONGRESOS CON PRESENTACIÓN DE TRABAJOS	1
AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN	5
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUCCIÓN	7
2. MATERIALES Y MÉTODOS	11
2.1. Animales.....	11
2.2. Diseño Experimental.....	15
2.2.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo.....	15
2.2.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social.....	17
2.3. Medición de Hormonas	19
2.3.1. Concentración plasmática de cortisol, testosterona y 11-cetotestosterona.....	19
2.3.2. Semi-cuantificación del contenido hipofisario de β -FSH, β -LH, y SL.....	20
2.4. Análisis Estadístico.....	21
2.4.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo.....	21
2.4.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social.....	21
3. RESULTADOS.....	22
3.1.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo.....	22
3.1.2. Dimorfismo sexual.....	22
3.1.3. Patrón de coloración.....	23
3.1.4. Comportamiento social: Establecimiento de los territorios.....	25
3.1.5. Comportamiento Reproductivo.....	27
3.1.6. Índices gonadosomáticos.....	31
3.1.7. Niveles plasmáticos de cortisol.....	31

3.1.8. Contenido hipofisario de β -FSH, β -LH y SL.....	31
3.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social.....	32
3.2.1. Jerarquía social, pareja reproductiva y oportunidad de ascenso social.....	32
3.2.2. Relación entre el tamaño de los individuos y la dominancia.....	33
3.2.3. Relación entre los índices organosomáticos y la dominancia.....	34
3.2.4. La dominancia y las concentraciones plasmáticas de cortisol.....	35
3.2.5. La dominancia y las concentraciones de testosterona y 11-cetotestosterona.....	36
3.2.6. La dominancia y el contenido hipofisario de β -FSH, β -LH y SL.....	37
4. DISCUSIÓN.....	38
4.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo.....	38
4.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social.....	43
5. BIBLIOGRAFÍA CITADA	49
6. ANEXO	52
6.1. Definiciones de algunos términos utilizados en este trabajo.....	52
6.2. El hipotálamo y la hipófisis en los peces teleósteos.....	52
6.3. Gonadotrofinas en peces teleósteos	53
6.4. Esteroides sexuales en peces	54
6.5. Cortisol en peces	54
6.6. Somatolactina.....	55
6.7. Bibliografía Citada en el Anexo.....	56

RESUMEN

En este trabajo se describen por primera vez el comportamiento social y reproductivo del pez cíclido neotropical *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) [Perciformes; Cichlidae], endémico de la cuenca del Paraná, desde un enfoque integral, incluyendo características morfológicas y fisiológicas. Este pez incubador de substrato presenta cuidado biparental de las crías y una jerarquía de dominancia que determina el acceso a territorios reproductivos entre los machos, y a machos con territorios entre las hembras. Antes de que comenzaran los comportamientos reproductivos se observó un comportamiento gregario asociado a una coloración corporal pálida. Luego, se observó el establecimiento de una jerarquía de dominancia a través de interacciones agresivas. Los individuos territoriales presentaron un patrón de coloración corporal brillante y los individuos no territoriales uno gris opaco. Los individuos reproductivos presentaron la región ventral oscurecida. Los despliegues de cortejo fueron similares a los de amenaza y tuvieron la característica común de aumentar el área visible de los peces. El macho dominante fue siempre el más grande, sugiriendo que probablemente la fuerza/tamaño de los individuos sea un factor determinante en el establecimiento de las jerarquías y que estas características seleccionadas intrasexualmente pueden haber sido reforzadas por selección intersexual. Los machos reproductivos presentaron un mayor contenido hipofisario de hormona folículo estimulante (β -FSH) y somatolactina (SL) que aquellos no reproductivos, mientras que no se encontraron diferencias entre las hembras. Tampoco se encontraron diferencias entre los índices gonadosomáticos de los machos. Los individuos no reproductivos presentaron niveles plasmáticos mayores de cortisol para ambos sexos. Aunque los individuos reproductivos dominantes podrían estar inhibiendo la reproducción de los peces de menor jerarquía a través de interacciones de contacto físico, aumentando sus niveles de cortisol y disminuyendo el contenido hipofisario de FSH y SL, esto no se vería reflejado a nivel gonadal en los tiempos evaluados en el presente experimento. En un segundo experimento, la jerarquía social de los individuos no reproductivos fue caracterizada de forma independiente para ambos sexos. A su vez, se estudió la relación de esta jerarquía con la probabilidad de ascenso en el estatus social. Los individuos de ambos sexos que se encontraban en el rango superior de la jerarquía social, ascendieron de estatus social cuando se generó dicha oportunidad, lo que indicaría que la dominancia está directamente relacionada con la probabilidad de ascenso social. La dominancia estuvo positivamente correlacionada con el tamaño de los individuos en el caso de los machos, no así en las hembras, lo que sugiere que en este último caso la dominancia podría estar relacionada con características intrínsecas como la agresividad o la personalidad en lugar del tamaño corporal y/o de los ovarios. Se registraron variables fisiológicas y morfométricas relacionadas a la reproducción, el estrés y la coloración corporal en los individuos no reproductivos y se las correlacionó con la dominancia y la probabilidad de ascenso social. La dominancia estuvo correlacionada negativamente con los niveles de cortisol en plasma para ambos sexos. No se detectó una correlación entre la dominancia y los niveles de andrógenos en plasma (testosterona y 11-cetotestosterona). No hubo correlación entre la dominancia y las variables morfológicas y fisiológicas seleccionadas en las hembras, lo que sugiere que no hay inhibición reproductiva en este sexo a nivel fisiológico y que todas las hembras parecerían estar listas para la reproducción. Por el contrario, la jerarquía social de los machos no reproductivos presentó una correlación positiva con el contenido hipofisario de la hormona folículo estimulante (FSH), y los índices gonadosomáticos. Esto sugiere un mecanismo adaptativo de los machos no reproductivos, ajustando la inversión reproductiva en relación con su probabilidad de ascenso en el estatus social, traduciendo la percepción de su posición en la jerarquía social en una señal fisiológica a través de los niveles plasmáticos de cortisol, los cuales regulan la inversión en los testículos a través de la inhibición hipofisaria de FSH, lo que representa una respuesta anticipatoria a la oportunidad de ascenso en el estatus social.

Palabras claves: Comportamiento agresivo, Cichlidae, Cortisol, Índices gonadosomáticos, Gonadotrofinas, Somatolactina.

ABSTRACT

In this work the social and reproductive behavior of the Neotropical fish *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) [Perciformes: Cichlidae], endemic to the Paraná River basin, is described for the first time using a comprehensive-integral approach, including morphological and physiological features. This substrate breeding fish has biparental care of the fry and presents a dominance hierarchy that determines access to breeding territories among males, and to males with territories among females. Gregarious behavior associated with a pale body color, was observed before reproductive behaviors started. Afterwards, a dominance hierarchy was established through aggressive interactions. Territorial individuals had bright body color patterns and non-territorial an opaque grey one. Black ventral coloration was associated with reproductive individuals. Courtship displays, which were similar to threatening displays, had the common effect of increasing the visible area of the individual. The dominant male was always the largest one suggesting that size is probably a major factor determining the hierarchy establishment and that these intra-sexually selected traits may have been reinforced by inter-sexual selection. Reproductive males had higher pituitary levels of β -follicle stimulating hormone (β -FSH) and somatolactin (SL) than non-reproductive ones, while no differences were found among females. No differences were found among male gonadosomatic indexes. Non-reproductive individuals had higher plasma cortisol levels for both sexes. It is possible that dominant reproductive individuals will be inhibiting reproduction of subordinate fish through physical contact, increasing their cortisol levels and diminishing FSH and SL pituitary content. However, this was not reflected as an inhibition at the gonadal level in our experimental design. In a second experiment, the social hierarchy of non-reproductive individuals was characterized, independently for both sexes and its relationship to the opportunity for social status ascent. Female and male individuals who were located on the top rank of the social hierarchy, ascended in social status when the opportunity arose, therefore indicating that dominance is directly correlated with social ascent likelihood. Dominance was positively correlated with size in males but not in females, suggesting for the latter a relationship with intrinsic features such as aggressiveness or personality rather than to body and/or ovarian size. Physiological and morphometrical variables related to reproduction, stress and body color were measured in non-reproductive fish and correlated with dominance and social ascent likelihood. Dominance was negatively correlated with plasma cortisol levels for both sexes. No correlation with dominance was found for androgen plasma levels (testosterone and 11-ketotestosterone). No correlation was detected between dominance and the selected morphological and physiological variables measured in females, suggesting no reproductive inhibition in this sex at a physiological level and that all females seem to be ready for reproduction. In contrast, social hierarchy of non-reproductive males was found to be positively correlated with follicle stimulating hormone (FSH) pituitary content levels and gonadosomatic indexes. This suggests an adaptive mechanism of non-reproductive males, adjusting their reproductive investment in relation to their likelihood for social status ascent, as perceived by their position in the social hierarchy. This likelihood is translated into a physiological signal through plasma cortisol levels that inhibit gonad investment through pituitary inhibition of FSH, representing an anticipatory response to the opportunity for social status ascent.

Key words: Aggressive behavior, Cichlidae, Cortisol, Gonadosomatic index, Gonadotropins, Somatolactin.

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de esta tesis de licenciatura es aportar al conocimiento de las interacciones existentes entre el contexto social, el comportamiento, la fisiología y la reproducción de los individuos, utilizando como modelo biológico a un pez neotropical de agua dulce presente en la Argentina (La Chanchita: *Cichlasoma dimerus*). Este tipo de estudios no sólo constituyen un aporte al conocimiento de la biología de estos organismos y, por extrapolación, a la biología en general en esos aspectos, sino que también sientan las bases para ulteriores estudios con potencial aplicabilidad en acuicultura y conservación de la biodiversidad.

Entre los animales sociales, la dominancia puede tener consecuencias de largo término sobre la fisiología de los individuos. Existen marcadas interacciones entre el comportamiento y los sistemas endocrino y nervioso, que a su vez modulan las interacciones entre un animal y su ambiente social y físico. Por ejemplo, se ha observado que el estatus social de dominancia controla la fertilidad (Fraley y Fernald, 1982; Abbot *et al.*, 1998; Faulkes y Bennet, 2001), suprimiendo la maduración gonadal en individuos subordinados (Barret *et al.*, 1990), y también influye sobre la tasa de crecimiento (Hofmann *et al.*, 1999), el estrés (Fox *et al.*, 1997; Abbot *et al.*, 2003) y la neurogénesis, ya que se observó en ratas que los individuos dominantes presentaban un mayor número de neuronas nuevas en el giro dentado del hipocampo (Kozorovitskiy y Gould, 2004). Aunque la regulación social de varios mecanismos fisiológicos es un fenómeno ampliamente estudiado, es poco lo que se conoce sobre los mecanismos que relacionan al ambiente social con los cambios fisiológicos asociados a la dominancia.

Muchos peces teleósteos exhiben un amplio rango de respuestas comportamentales a estímulos ambientales y sociales, frecuentemente asociados con su reproducción. Por otra parte, el efecto del comportamiento sobre la fisiología reproductiva también ha sido constatado y pueden mencionarse numerosos ejemplos al respecto, como ser cambios reversibles en la competencia reproductiva, adopción de distintas estrategias reproductivas dentro de un sexo, y cambios reversibles o permanentes en el sexo gonadal (Ross, 1990; Taborsky, 1994).

Por otra parte, los cíclidos (Perciformes: Cichlidae), una familia ampliamente distribuida de peces teleósteos que comprende a tres grandes clados monofiléticos: el Madagascar/Indio, el Africano y el Neotropical (Farias *et al.*, 2000), han sido ampliamente estudiados en el campo del control social de la reproducción dado que exhiben complejos comportamientos sociales, territorialidad y cuidado parental de la progenie (Keenleyside, 1991); sin embargo, las especies más estudiadas son de origen africano: *Astatotilapia burtoni* (Günther, 1894) y *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1858) (Fox *et al.*, 1997; Ogawa *et al.*, 2006; Grosnick *et al.*, 2007; Kustan *et al.*, 2011; Antunes y Oliveira, 2009; Oliveira *et al.*, 2009). En cambio, la fisiología y el comportamiento de los cíclidos Neotropicales es poco conocida y estudiada.

Durante el ascenso en el estatus social en *A. burtoni* ocurren rápidos cambios fisiológicos y genómicos (Burmeister *et al.*, 2005; Maruska y Fernald, 2010; Maruska y Fernald, 2011; Maruska *et al.*, 2011). A su vez, en esa especie se observó que los machos no-territoriales y los animales que están ascendiendo de estatus social muestran un incremento en la tasa de crecimiento, mientras que los machos territoriales y los animales que descienden de estatus social presentan una menor tasa de crecimiento o incluso una reducción de su tamaño (Hofmann *et al.*, 1999). También se observaron cambios en el tamaño de las neuronas involucradas en el control del crecimiento (ej.: neuronas que expresan somatostatina) (Hofmann *et al.*, 2000) y en las neuronas GnRHérgicas (Fox *et al.*, 1997) y diferencias en la fisiología reproductiva entre peces territoriales y no territoriales de esta especie, probablemente mediadas por cortisol, relacionada a respuestas fisiológicas frente a situaciones de estrés (Fox *et al.*, 1997). Sin embargo, es importante destacar que recientemente se ha demostrado que los individuos subordinados de *A. burtoni* retienen la competencia reproductiva durante la supresión social (Kustan *et al.*, 2011).

Los cíclidos neotropicales, con más de 400 especies válidas, aún no han sido estudiados ampliamente a nivel comportamental y, menos aún, con respecto al efecto de las interacciones intraespecíficas sobre la reproducción, el comportamiento social y su correlato fisiológico. Sólo en el cíclido convicto *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867) de Centroamérica, estas características han sido más extensamente estudiadas (ej.: Noonan, 1993; Nuttal y Keenleyside, 1993; Wisenden, 1995). Por ello, para el presente trabajo se eligió como modelo experimental a *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840), un cíclido Neotropical que habita en la cuenca de los Ríos Paraná y Paraguay, generalmente en ambientes de baja o nula velocidad de corriente y densamente vegetados, siendo una especie muy abundante y frecuente en este tipo de ambientes (obs. pers.) que posee una alimentación basada principalmente en insectos acuáticos (Casciotta *et al.*, 2005). Esta especie puede mantenerse en acuario fácilmente y se reproduce a una alta frecuencia (cada unos 15 días si se retiran las crías luego de la primer semana post-eclosión) durante unos 6 meses del año, en condiciones de fotoperiodo natural de la ciudad de Buenos Aires (desde Noviembre a Abril, cuyos fotoperiodos son aproximadamente de 14 y 12 hs respectivamente), y a lo largo de todo el año, bajo un fotoperiodo largo (14 hs) y temperatura controlada (20-26) °C. Estas características ventajosas para su manutención y estudio en condiciones de laboratorio, hacen de *C. dimerus* un interesante modelo biológico para realizar estudios reproductivos y comportamentales (Pandolfi *et al.*, 2009). Además, dado que esta especie presenta un complejo sistema social y comportamientos reproductivos relativamente estereotipados, es un modelo ideal para estudiar las interacciones entre la reproducción y el entorno social de los individuos.

El primer objetivo de esta tesis fue poner a prueba 2 hipótesis. Hipótesis 1: los individuos no reproductivos se encuentran inhibidos reproductivamente por el contexto social en algún punto del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y esa inhibición ocurre a través de algún

mecanismo vinculado con el estrés. Para ello se diseñó un experimento que permitiera evaluar el efecto del contexto social sobre algunos parámetros de la fisiología reproductiva de los individuos y, simultáneamente, describir de manera detallada el comportamiento social y reproductivo de *C. dimerus* en condiciones de laboratorio. Para ambos sexos, se compararon individuos reproductivos con individuos inhibidos socialmente de reproducirse, respecto a parámetros reproductivos, como el índice gonadosomático y el contenido hipofisario de gonadotrofinas (hormonas relacionadas con la fisiología reproductiva), como la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH). También se cuantificaron los niveles plasmáticos de cortisol, hormona sintetizada en la glándula adrenal relacionada con respuestas fisiológicas a situaciones de estrés. Además, se analizó el patrón de coloración corporal de los individuos y el contenido hipofisario de somatolactina (SL) entre los individuos de diferentes estatus social, dado que en trabajos previos en esta especie y en el Corvinón Ocelado *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766) se observó un efecto de SL en la adaptación del color corporal al color de fondo del ambiente (Zhu y Thomas, 1996; Cánepa *et al.*, 2006). Además, en otro trabajo en el pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835), se encontraron diferencias entre las hembras sexualmente activas y aquellas que se encontraban en reposo en las áreas inmunoreactivas (ir) de células de somatolactina y también se observó una correlación positiva entre el área celular ir-SL y los índices gonadosomáticos. En los machos de pejerrey, esta correlación no fue encontrada (Vissio *et al.*, 2002). Observaciones preliminares en *C. dimerus* mostraron diferencias en el patrón de coloración relacionado a los diferentes estatus sociales y a las diferentes etapas del periodo reproductivo. En consecuencia, se decidió describir los diferentes patrones de coloración asociados a los diferentes estatus sociales, al mismo tiempo que analizar el contenido hipofisario de SL.

En este primer experimento se observó que los individuos inhibidos socialmente de reproducirse mantenían una jerarquía social entre sí y, dado que estos peces en sus ambientes naturales sufren constantes variaciones ambientales, como por ejemplo inundaciones, y están sometidos a depredación, se hipotetizó que este tipo de circunstancias generan oportunidades para estos individuos de ascender de estatus social y reproducirse. Si la probabilidad de ascenso social está correlacionada con la jerarquía, entonces sería de un valor adaptativo positivo para los individuos no reproductivos, si éstos pudieran ajustar su fisiología reproductiva en función de la probabilidad de ascender de estatus social y reproducirse. En consecuencia, se plantearon dos hipótesis principales y se realizó un nuevo experimento para ponerlas a prueba. Hipótesis 1: la jerarquía social de los individuos inhibidos socialmente de reproducirse está correlacionada con la probabilidad por parte de los mismos de ascender a un estatus social reproductivo. Hipótesis 2: los individuos inhibidos socialmente de reproducirse presentan diferencias a nivel de su fisiología reproductiva asociadas con esta probabilidad. Esta última hipótesis tiene como supuesto que los ajustes en la inversión reproductiva en función de la probabilidad de reproducirse del individuo podrían resultar ser de un valor adaptativo positivo.

Durante la temporada reproductiva, algunas especies establecen una jerarquía de dominancia social que determina el acceso a la reproducción y a recursos para aquellos individuos de mayor rango social (Dewsbury, 1982). La depredación o los cambios ambientales pueden generar una oportunidad de ascenso en el estatus social para los individuos de menor rango, permitiéndoles reproducirse. La posibilidad de una respuesta anticipatoria previa al ascenso en el estatus social no ha sido aún estudiada. ¿Es posible que los individuos no reproductivos puedan ajustar su inversión reproductiva, como una respuesta fisiológica anticipada, en relación a su probabilidad de ascenso en el estatus social? ¿Pueden los peces censar esta probabilidad a través de su rango social y traducirlo en una respuesta fisiológica anticipatoria? En base a estas preguntas, otro objetivo que se planteó en la presente tesis fue caracterizar la jerarquía de los individuos no-reproductivos. Si la jerarquía social predice la probabilidad de ascenso en el estatus social, entonces podría ser de un valor biológico adaptativo positivo que el rango pudiera ser traducido en una señal fisiológica regulando la inversión reproductiva.

El primer objetivo de este segundo experimento fue caracterizar la jerarquía social y predecir cuál de los individuos no-reproductivos ascenderá de estatus a través de manipulaciones del entorno social. En segundo lugar, se estudió la relación entre la jerarquía de los individuos no-reproductivos y algunas variables fisiológicas y morfológicas relacionadas con la reproducción, el estrés y la coloración corporal. Tres hipótesis fueron testeadas en este experimento: a) Los individuos de un rango mayor en la jerarquía social ascienden de estatus social y forman una pareja reproductiva cuando una oportunidad de ascenso social se presenta; b) El rango en la jerarquía social de los individuos está determinado por su tamaño y peso corporal relativos; y c) La jerarquía de los individuos no reproductivos está correlacionada con los niveles de diferentes hormonas relacionadas a la reproducción, la dominancia y la coloración corporal, en particular, con el contenido hipofisario de β -FSH, SL y β -LH, y concentraciones plasmáticas de cortisol, y andrógenos (testosterona y 11-ceto-testosterona), que en otras especies de cíclidos se observó que están relacionados a cambios en el estatus social de los individuos, en *Astatotilapia burtoni* (Maruska y Fernald, 2011) y a la dominancia en *Oreochromis mossambicus* (Oliveira *et al.*, 2009).

Dado que las estrategias reproductivas, los comportamientos sociales y la fisiología asociada a éstos pueden diferir entre ambos sexos, se decidió poner a prueba estas hipótesis de forma independiente para machos y hembras.

Para más información sobre las hormonas y sistemas estudiados en esta tesis y una definición de algunos de los términos utilizados en la misma consultar el **Anexo**.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Animales

Los ejemplares de *Cichlasoma dimerus* utilizados en este estudio fueron colectados con redes en los Esteros del Riachuelo: (27°35'S, 58°45'O; Corrientes, Argentina) y mantenidos, al menos durante un mes antes de comenzar los experimentos, en acuarios bajo condiciones de luz y fotoperiodo controladas: (25±1) °C, (14:10) ciclo de horas de luz:oscuridad con iluminación de espectro completo. En los acuarios se dispuso una capa de grava (~ 4 cm) sobre el fondo y los mismos estuvieron densamente plantados con plantas acuáticas naturales (*Cabomba* sp. *Ceratopteris* spp. *Echinodorus* sp., y *Egeria densa*) emulando algunas de las características sobresalientes del hábitat de esta especie que habita ambientes densamente vegetados y con baja velocidad de corriente de agua (Figura 1). Esto fue observado por el autor de esta tesis en ambientes del estado de Mato Grosso, en Brasil, y en las provincias de Chaco, Formosa y Entre ríos, en Argentina; en concordancia con lo observado por Casciotta *et al.* (2005) para los Esteros del Iberá, Corrientes. En los extremos del acuario se colocaron piedras planas de pizarra que esta especie puede utilizar como sustrato de desove en cautiverio. El acuario fue dividido al medio por una barrera de rocas y plantas que, según se observó previamente, favorece el establecimiento de territorios. Los animales fueron alimentados diariamente hasta saciarlos con un alimento comercial en pellets para "peces tropicales". Todos los experimentos realizados fueron acordes a las regulaciones locales y nacionales y a las normas internacionales sobre bienestar animal (National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (2011)).









Figura 1. Ambientes donde habita *Cichlasoma dimerus*. Las primeras tres fotografías corresponden a ambientes de los esteros del Iberá (cedidas por Ignacio García). Las últimas tres fotografías corresponden a ambientes junto a la ruta 11 en la provincia de Chaco, Noreste Argentino. En todos los casos puede observarse que los ambientes donde habita esta especie suelen tener poca corriente y abundantes plantas acuáticas. La visibilidad de los mismos, sin embargo, es variable.

2.2. Diseño Experimental

2.2.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo

En acuarios con un diseño y condiciones similares a las descritas en el punto anterior, se colocaron 4 hembras y 4 machos de *C. dimerus*, de tamaños similares (Acuario de 25cm x 80 cm x 40 cm = Ancho x Largo x Profundidad; volumen=80 L; densidad= 40 individuos/m²). Se esperó la formación de una pareja reproductiva y el establecimiento de jerarquías entre los individuos, lo que normalmente sucedió durante la primer semana (Figura 2.a). Los animales fueron observados dos veces por día por períodos de 15 minutos, a la mañana y a la tarde, para verificar el estatus social, patrón de coloración y el comportamiento general de los individuos. El establecimiento de los territorios, las jerarquías sociales, la dominancia y el comportamiento reproductivo fueron observados y registrados.

Figura 2.

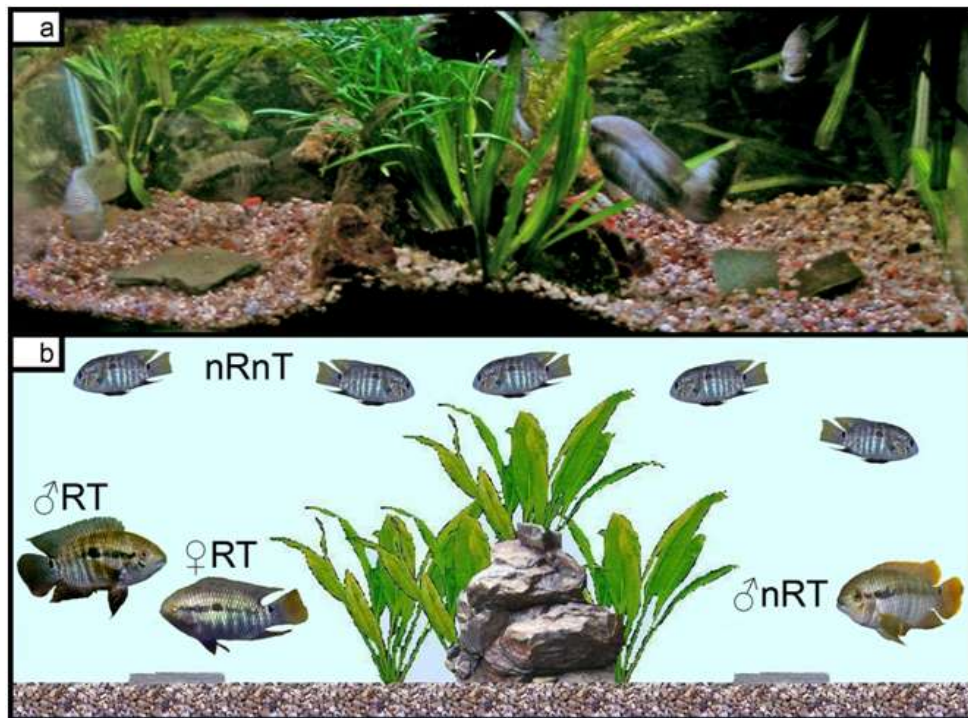
Diseño experimental de los acuarios y distribución de los individuos de diferentes estatus sociales en los mismos:

a) Foto de un acuario experimental;

b) Representación esquemática.

Abreviaciones usadas: **nRnT** = individuo no Reproductivo no Territorial; **nRT** = individuo no Reproductivo

Territorial; **RT** = individuo Reproductivo Territorial. Para una descripción detallada de estos estatus sociales ver la **Tabla 3**.



Las larvas eclosionan dos días después de la fecundación de los huevos, al comienzo del tercer día, y permanecen adheridas al sustrato a través de tres glándulas adhesivas presentes en sus cabezas, hasta que comienzan a nadar, a los ocho días post-fecundación (8dPF) (Meijide y Guerrero, 2000) (Figura 3). En esta etapa se observó el mayor nivel de agresividad por parte de los individuos reproductivos (R), por lo que se esperaba encontrar diferencias fisiológicas más marcadas entre los individuos R y no R. En consecuencia, se eligió este momento (8dPF) para tomar las muestras correspondientes.

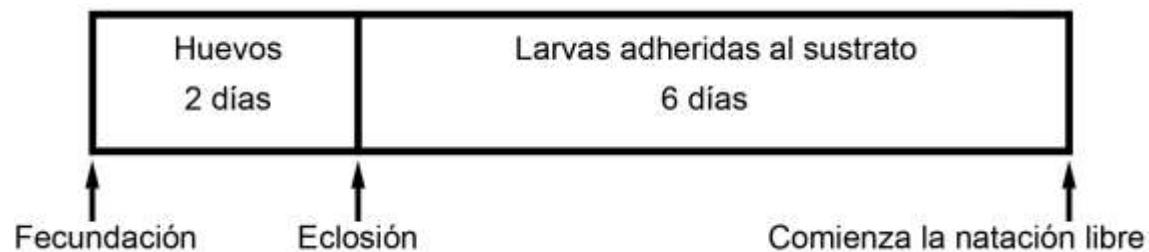


Figura 3. Cronograma de la evolución de la puesta. A una temperatura de aproximadamente 25 °C, se produce la eclosión de las larvas dos días después de haberse producido la fecundación, generalmente al comienzo del tercer día. Las mismas permanecen adheridas al sustrato por 6 días, a través de glándulas adhesivas presentes en sus cabezas, periodo durante el cual los progenitores las trasladan sucesivamente a pozos previamente cavados en la grava. Luego de 6 días, las larvas comienzan a nadar.

Sólo cuatro individuos del total de ocho peces en cada acuario fueron muestreados y sacrificados al final del experimento: la pareja reproductiva (1 macho RT y 1 hembra RT), y dos individuos no reproductivos (1 macho no Reproductivo no Territorial [nR-nT] y una hembra nR-

nT). Los individuos nR-nT utilizados fueron aquellos de menor rango en la jerarquía social, ya que se pudo constatar en estos experimentos que existía también una jerarquía entre los individuos nRnT (ver Resultados y Experimento 2). Los animales fueron anestesiados por inmersión en una solución al 0,1% de benzocaína. El peso corporal (PC) y la longitud estándar de los individuos fueron registrados. Se tomaron muestras de sangre por punción caudal para medir los niveles de cortisol en plasma y luego los animales fueron sacrificados por decapitación. El peso de los testículos (PT) fue registrado y se determinó un índice gonadosomático ($IG=PT*100/PC$). Las hipófisis se disecaron y procesaron como se describe a continuación para el análisis por Western blot. El experimento se repitió cuatro veces (4 réplicas) con un total de 32 individuos ($n=4$, $N=32$), ya que tanto el desarrollo de los mismos como el procesamiento de las muestras insumía un tiempo considerablemente largo que impidió alcanzar un mayor número de réplicas en el tiempo que duró la presente tesis.

A continuación se decidió realizar un segundo experimento para explorar la jerarquía de los individuos no reproductivos (nR) en relación a su fisiología reproductiva y su relación con la probabilidad de los mismos de ascender de estatus social a un "estado reproductivo" generando dicha oportunidad por manipulación del contexto social.

2.2.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social

Para caracterizar la jerarquía social de dominancia de los individuos no reproductivos (nR) de *C. dimerus*, se realizaron dos experimentos análogos para ambos sexos independientemente. Una representación esquemática del diseño experimental se observa en la Figura 4. Para estudiar la estructura social de los machos no reproductivos y su fisiología relacionada, 1 hembra y 4 machos de tamaño similar fueron colocados en un acuario (Acuario de 25cm x 80 cm x 40 cm = Ancho x Largo x Profundidad; volumen=80 L; densidad= 25 individuos/m²). La longitud estándar y el peso de los peces de este experimento, expresados como promedio±error estándar fueron de (9,1±0,2)cm y (41±3)g respectivamente para los machos, y (9,2±0,3)cm y (20,2±0,9)g respectivamente para las hembras. El acuario fue acondicionado igual que en el experimento 1. Durante el transcurso del experimento los peces fueron observados dos veces por día, por la mañana y por la tarde, durante 15 minutos cada vez. El establecimiento de territorios, el estatus social y los comportamientos reproductivos fueron observados y registrados *ad libitum* durante ese período. Al formarse una pareja reproductiva, la jerarquía social fue determinada por una matriz de interacciones, y se calculó un índice de dominancia (ID) para cada individuo (Lenher, 1996) como: $ID=\sum(W_i/T_i)/N$, donde W_i es el número de interacciones ganadas al individuo i , definidas como persecuciones o mordidas a i , T_i es el número total de interacciones de este tipo con el individuo i , y N es el número total de oponentes (o peces que se consideran en la jerarquía).

Para determinar cuál de los machos no reproductivos asciende en el estatus social cuando se presenta una oportunidad, el macho reproductivo (♂RT) fue retirado del acuario y mantenido aislado en un acuario separado (Figura 4.A). El macho no reproductivo (♂nRT)

que ascendió de estatus social formó una pareja con la hembra reproductiva (♀RT), lo que nunca tardó más de un día en ocurrir (Figura 4.B). Inmediatamente después, los animales fueron trasladados a un nuevo acuario junto con el macho reproductivo territorial original (♂RT) (Figura 4.C). La pareja reproductiva original y las jerarquías sociales fueron restablecidas rápidamente como en el punto esquematizado en la Figura 4.A. Luego de dos semanas, durante las cuales la jerarquía social y la pareja reproductiva siempre permanecieron estables, una nueva matriz de dominancia fue realizada para controlar que no hubieran diferencias a nivel comportamental entre las etapas de la Figura 4.A y 4.C, y en consecuencia poder descartar un posible efecto de haber retirado y repuesto al ♂RT . A su vez, el diseño consistente en retirar del acuario experimental al ♂RT sólo por un día y luego, esperar 2 semanas antes de procesar a los animales, tuvo como propósito el minimizar este posible efecto. Finalmente, los peces fueron anestesiados y, el peso y la longitud estándar (LE), registrados. Se tomaron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones plasmáticas de cortisol (C), y de los andrógenos testosterona (T) y 11-cetotestosterona (11-KT). Los animales fueron sacrificados por decapitación y las gónadas, hígado y bazo fueron pesadas para determinar los respectivos índices gonadosomáticos (Figura 4.D). Los índices bazosomáticos y hepatosomáticos se utilizaron como un control indirecto del estado inmunológico y metabólico, respectivamente, de los individuos. Las hipófisis fueron procesadas como se describe más abajo para las técnicas de Western blot, para semicuantificar el contenido de hormona β -folículo estimulante (β -FSH), somatolactina (SL) y hormona β -luteinizante (β -LH). Este experimento fue repetido 5 veces ($n=5$, $N=25$).

Para las hembras, un experimento análogo fue realizado, siguiendo el mismo procedimiento que para los machos. Brevemente, 4 hembras de tamaño similar y 1 macho fueron colocados en un acuario. La longitud estándar y peso corporal, expresados como promedio \pm error estándar de los individuos fue: $(7,3\pm 0,2)\text{cm}$ y $(21,3\pm 1,6)\text{g}$ para las hembras, y $(8,4\pm 0,1)\text{cm}$ y $(31,4\pm 2,4)\text{g}$ para los machos. Luego que se formara una pareja reproductiva y se establecieran las jerarquías de dominancia, estas fueron estudiadas como se describe anteriormente para el experimento de los machos y la hembra reproductiva (♀RT) fue retirada del acuario. Se observó cuál de las hembras no reproductivas no territoriales (♀nRnT) formaba una pareja con el macho reproductivo territorial (♂RT). Luego, los peces fueron transferidos a un nuevo acuario junto con la hembra reproductiva original (♀RT). Luego de dos semanas, la jerarquía social fue registrada una vez más, y los animales fueron procesados como se describió anteriormente. Este experimento fue repetido 3 veces ($n=3$, $N=15$), a diferencia del experimento de los machos ($n=5$) ya que los tiempos para realizar los mismos experimentos superaron los establecidos para el desarrollo de la presente tesis.

Todas las muestras y variables fisiológicas de ambos experimentos fueron tomadas y medidas respectivamente, en el mismo momento del día.

Figura 4.

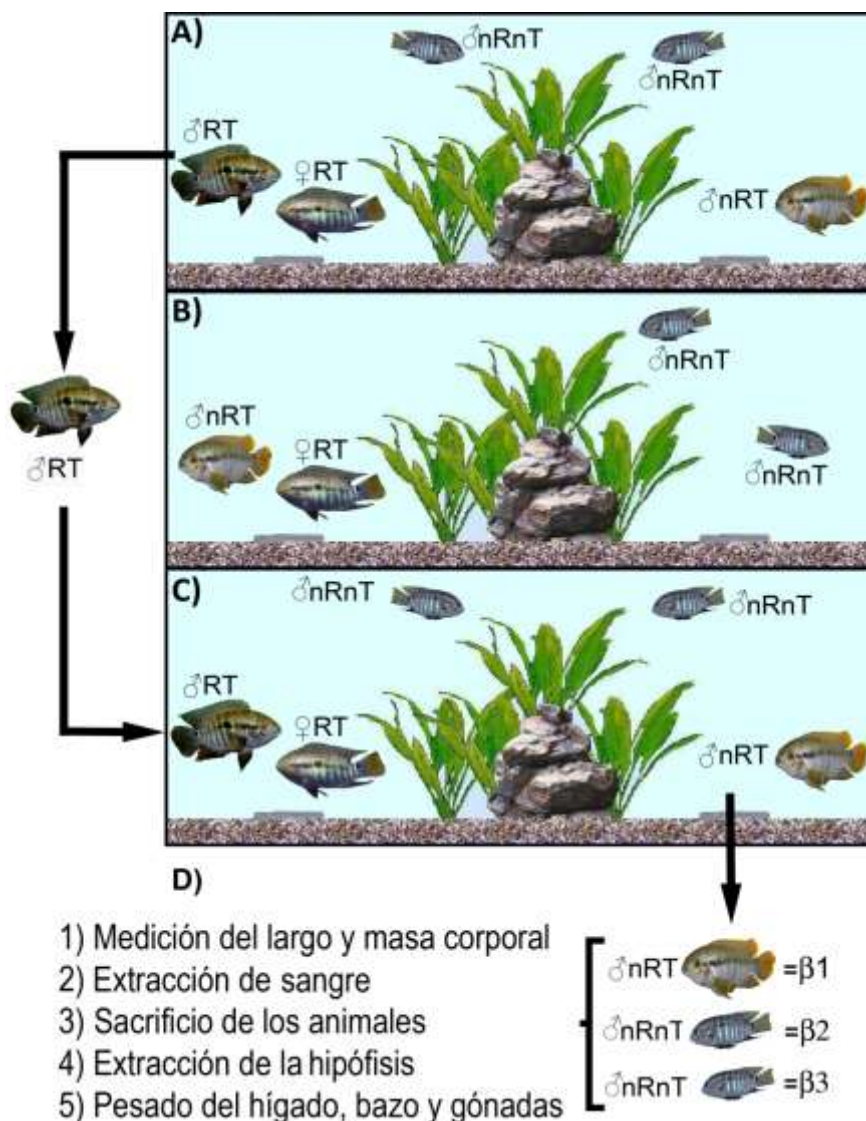
Representación esquemática del diseño experimental usado para machos. Un diseño análogo se utilizó para las hembras.

A) Una hembra y cuatro machos fueron colocados en un acuario y, cuando una pareja reproductiva se formó, la jerarquía de dominancia fue registrada. Luego, el macho reproductivo territorial (σ^{RT}) fue separado en un acuario aislado.

B) Se registró cuál de los individuos no reproductivos (σ^{nRnT} y σ^{nRT}) formó una nueva pareja con la hembra.

C) Todos los peces fueron transferidos a un nuevo acuario junto con el σ^{RT} retirado en "A". Cuando se formó nuevamente la pareja original, la jerarquía social fue registrada.

D) Dos semanas después, los individuos no reproductivos fueron anestesiados, se midió el largo estándar y el peso corporal de los mismos, se les extrajo una muestra de sangre para su posterior análisis y luego se los sacrificó. Abreviaturas: macho reproductivo territorial (σ^{RT}), hembra reproductiva territorial (σ^{RT}), macho no reproductivo territorial (σ^{nRT}), macho no reproductivo no territorial (σ^{nRnT}). Dominancia: $\sigma^{\text{RT}} > \beta_1 > \beta_2 > \beta_3$.



2.3. Medición de Hormonas

2.3.1. Concentración plasmática de cortisol, testosterona y 11-cetotestosterona

Se extrajo la sangre de los peces inmediatamente luego de su captura (menos de 4 minutos) a través de una punción caudal y se recolectó la misma en tubos heparinizados. Luego, el suero fue separado por centrifugación a 3000 rpm por 20 minutos y guardado a -20°C hasta el ensayo. El cortisol (C) fue medido por inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (EQLIE) usando un analizador Cobas (Roche). Los niveles plasmáticos de testosterona (T) y 11-cetotestosterona (11-KT) fueron cuantificados con un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

usando kits comerciales (Inter-teck, Virginia, USA for T and Cayman Chemical Company, MI, USA for KT). Los análisis se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante y, para cada placa de ELISA, se realizó una curva estándar. Para establecer la dilución adecuada de trabajo se realizaron ensayos pilotos con tres diluciones diferentes de diez muestras (5 muestras por sexo). Todas las muestras fueron analizadas por duplicado. Los ensayos fueron validados con estándares provistos en el kit, indicando que cada kit efectivamente detecta T, 11-KT y C de *C. dimerus*. Para todos los kits se realizaron tests intra e inter-ensayo. La curva de esta serie de diluciones fue paralela a la curva estándar para todos los kits.

2.3.2. Semi-cuantificación del contenido hipofisario de β -FSH, β -LH, y SL

Para cuantificar el contenido hipofisario de hormonas relacionadas con la reproducción (β -FSH, β -LH) y con cambios en el patrón de coloración (SL), se realizó un análisis electroforético en un gel de 15% de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida seguido de Western blot. Las hormonas fueron inmunodetectadas utilizando antisueros heterólogos, cuyas especificidades han sido previamente testeadas en esta especie (Pandolfi *et al.*, 2001, 2006) (Tabla 1). Luego de la disección, cada hipófisis fue homogenizada en 100 μ l de buffer Tris-HCl 50 mM, pH7,4 con 1 μ l de un cóctel inhibidor de proteasa (Sigma, St Louis, Mo.) Luego, 15 μ g de proteína con buffer de carga (120mM Tris-HCl pH 6,8; 3% dodecilsulfato; 10% glicerol; 1% β -mercaptoetanol) fueron calentados a 100°C por 5 minutos y sembrados en el gel. Luego de la electroforesis, las proteínas y los marcadores moleculares (SeeBlue Plus2 PreStained Standard; Invitrogen) fueron transferidos a una membrana de nitrocelulosa (Amersham Biosciences) por 60 minutos a 4°C y 75 V. A continuación, las membranas fueron lavadas en Buffer Tris Salino Tween20 (TBST) pH 7,5 y bloqueados con TBST conteniendo 3% de leche descremada durante la noche. Posteriormente, las membranas fueron incubadas a temperatura ambiente (TA) por 3 horas con diferentes antisueros primarios (Tabla 1) y lavados luego con TBST. Las membranas fueron incubadas después con un anti-conejo igG biotinilado (Sigma-Aldrich) (1:1000) por una hora a TA, lavadas nuevamente, e incubadas finalmente con un complejo de estreptavidina conjugada a fosfatasa alcalina (Sigma-Aldrich) (1:2000) por 45 minutos a TA. Luego del lavado, la reacción fue visualizada usando un kit revelador de la actividad de esta enzima (BCIP/NBT, Vector Blue, Dako). Finalmente, las membranas fueron secadas, digitalizadas y la semicuantificación de la densidad óptica fue realizada usando el programa Image Gauge versión 3.12 (Fuji Photo Film) software. Para controlar posibles errores de carga en el gel de poli-acrilamida, la densidad óptica obtenida para cada banda medida fue relativizada a la densidad óptica de α -tubulina de su correspondiente calle.

Tabla 1. Antisueros utilizados en los análisis de Western blot y peso molecular estimado de las hormonas hipofisarias estudiadas de *Cichlasoma dimerus*.

Antisuero	Dilución	Fuente	Donado por	Bandas-ir Detectadas
anti-SL	1:2000	<i>Sparus aurata</i>	Dr Antonio Astola ¹	32 y 28 kDa
anti-βFSH	1:1000	<i>Fundulus heteroclitus</i>	Dr Akio Shimizu ²	19 y 15 kDa
anti-βLH	1:2000	<i>Fundulus heteroclitus</i>	Dr Akio Shimizu ²	24 kDa

¹Dr. Antonio Astola (Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, España)

²Dr. Akio Shimizu (National Research Institute of Fisheries Science, Kanazawa, Yokohama, Japan)

2.4. Análisis Estadístico

2.4.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo

El análisis estadístico de los datos de cortisol plasmático fue realizado con un análisis de la varianza de tres factores (ANOVA), con dos factores fijos: sexo y estado reproductivo; y un factor aleatorio (cada repetición de los experimentos). Este diseño permitió testear la interacción entre los factores "sexo" (dos niveles: masculino o femenino) y "estado reproductivo" (dos niveles: reproductivo o no reproductivo) y a la vez controlar algo del error experimental relacionado a la variabilidad entre las réplicas del experimento. El análisis estadístico de los índices gonadosomáticos fue realizado con un test T de Student. El análisis de los datos del Western blot fue realizado con un test de Mann-Whitney. Todos los supuestos para los análisis estadísticos realizados fueron testeados. El nivel de significación estadística fue establecido en $\alpha=0,05$. La información es presentada como el promedio±error estándar. Se utilizó el software Statistica 7.0 (Statsoft, Inc) para los análisis.

2.4.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social

En cada repetición de los experimentos, los valores absolutos de las variables fueron transformados a una escala ordinal para testear una correlación entre el orden de las mismas y la dominancia. Una correlación de coeficientes de rangos de Spearman y un test de correlación nula fueron realizados para testear la correlación dentro de cada experimento entre el índice de dominancia (ID) de cada individuo y el orden del peso corporal, el largo, los índices organosomáticos, el contenido hipofisario de β-FSH, β-LH y SL, y la concentración plasmática de cortisol y andrógenos. Todas las repeticiones del experimento para cada sexo fueron analizadas juntas. Se estableció la significación estadística a $\alpha=0,05$ para todos los tests. En las correlaciones entre el orden del peso corporal y longitud estándar (LE) con los índices de dominancia, los individuos reproductivos del sexo correspondiente también fueron considerados en el análisis, ya que se quería estudiar la relación de estas variables con la dominancia en general. Para las variables restantes, sólo los individuos no reproductivos fueron considerados. Los datos se presentan como el promedio±error estándar. Se utilizó el software Infostat 2010 (FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) para los análisis.

3. RESULTADOS

"A los mayores les gustan las cifras. Cuando se les habla de un nuevo amigo, jamás preguntan sobre lo esencial del mismo. Nunca se les ocurre preguntar: "¿Qué tono tiene su voz? ¿Qué juegos prefiere? ¿Le gusta coleccionar mariposas?" Pero en cambio preguntan: "¿Qué edad tiene? ¿Cuántos hermanos? ¿Cuánto pesa? ¿Cuánto gana su padre?" Solamente con estos detalles creen conocerle."

Antoine de Saint-Exupéry (1943: El Principito).

3.1.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo

Las categorías tradicionalmente utilizadas de "Dominante" y "no-Dominante" para el estatus social de los individuos de otras especies no resultaron adecuadas para describir los estatus sociales de *C. dimerus* ya que esta especie presentó una jerarquía aparentemente lineal (A>B>C>D...), más que despótica (A>B=C=D). Por ejemplo, el individuo A es dominante respecto de B, C y D, y el individuo B es dominante respecto de C y D pero subordinado de A. Estas ambigüedades hicieron a estas categorías inadecuadas para describir los diferentes estatus sociales observados durante el periodo reproductivo. Además durante el período invernal se observó que los individuos no se reproducen, presentan una coloración pálida característica y un comportamiento gregario sin jerarquías aparentes. En consecuencia, se proponen nuevas categorías que describen mejor los estatus sociales observados, basadas en el estado reproductivo y la territorialidad de los individuos (Tabla 2).

Tabla 2. Dominancia y estatus sociales en *C. dimerus*.

	ESTATUS SOCIAL
	Gregario
D O M I N A N C I A	RT= Reproductivo Territorial
	nRT= no Reproductivo Territorial
	nRnT= no Reproductivo no Territorial

3.1.2. Dimorfismo sexual

A pesar de que no se observaron diferencias conspicuas a nivel morfológico entre ambos sexos, en general los machos de *C. dimerus* son más grandes que las

hembras. En promedio en este experimento la longitud estándar (LE) y el peso corporal de los individuos fue de 10cm y 49g para los machos y 8cm y 32g para las hembras. La LE promedio de las hembras fue un 84% de la LE de los machos. Por otro lado, los sexos pueden diferenciarse durante el período de puesta por los patrones de coloración distintivos que presentan y la morfología externa de la papila genital, la cual es más alargada, fina y termina en punta en los machos, en tanto que en las hembras ésta es más ancha, corta y termina truncada (Figura 5). A su vez, los machos más grandes (LE>9cm) a veces presentan algunos de los radios posteriores de la aleta dorsal alargados y curvados en dirección ventral adquiriendo esta zona de la aleta un aspecto de "gancho" que suele sobrepasar el extremo distal de la aleta caudal como se aprecia en el ejemplar de la Figura 6.e. Cabe remarcar aquí que algunos machos, y en especial aquellos más pequeños (LE<9cm), no presentan esta característica (Figura 6.c) y también, que algunas hembras pueden presentar estos radios de la aleta dorsal relativamente elongados pero nunca curvados de la forma anteriormente descrita (Figura 6.d).

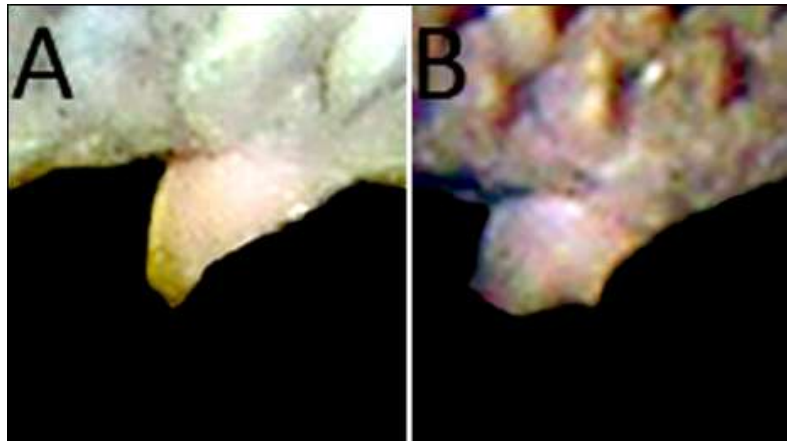
Figura 5.

Ampliación de la región ventral y papilas genitales de fotografías tomadas a individuos en el momento de la puesta.

A) Papila genital de un macho.

B) Papila genital de una hembra.

(Aumento: 1).



3.1.3. Patrón de coloración

Una representación esquemática de la distribución de los peces de diferente estatus social dentro del acuario experimental puede observarse en la Figura 4. Las diferentes características del patrón de coloración asociadas con los diferentes estatus sociales se muestran en la Figura 6 y se describen en detalle en la Tabla 3.

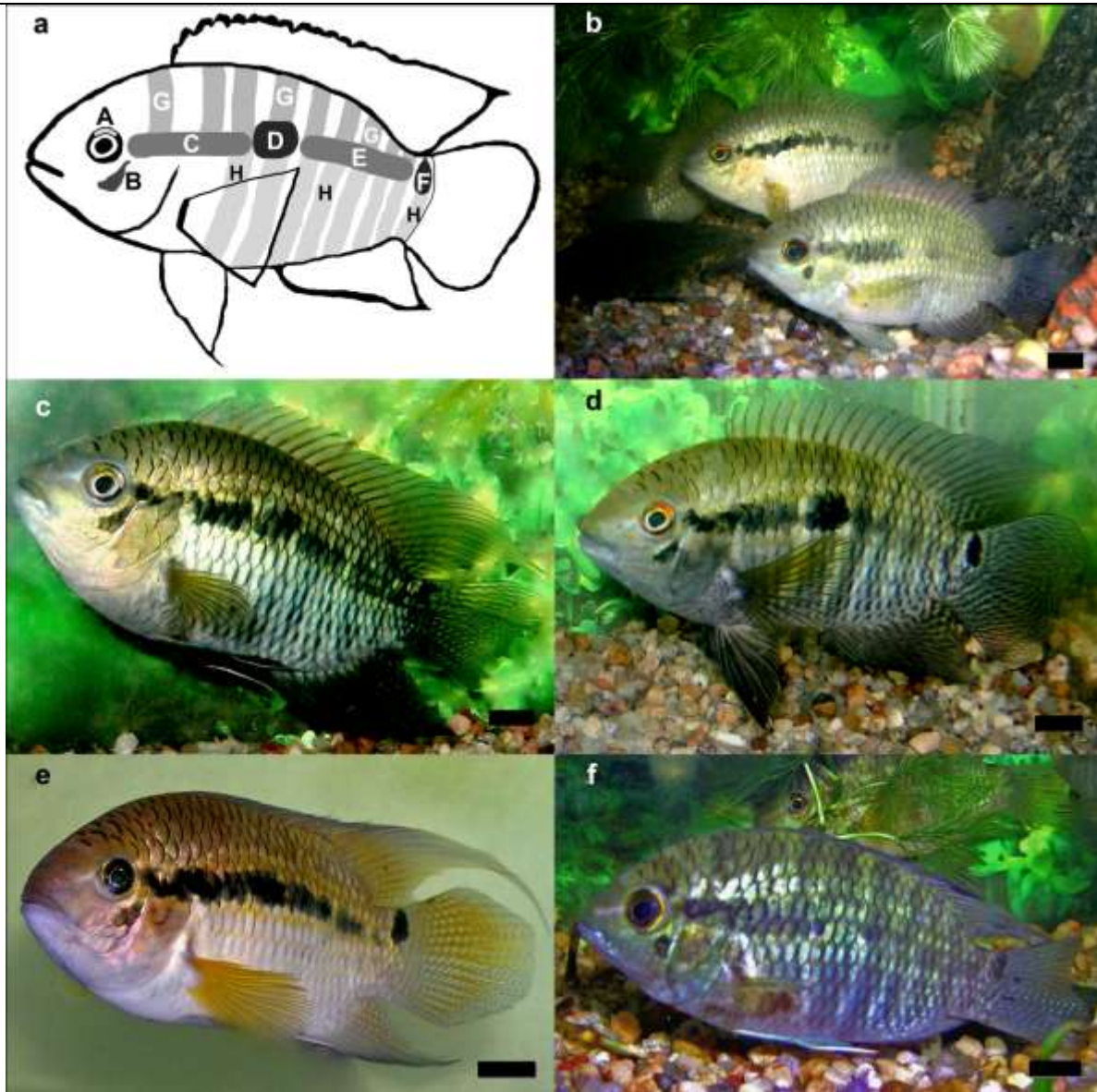


Figura 6. Patrones de coloración asociados con los diferentes estatus sociales:

a) Representación esquemática de las principales características del patrón de coloración de *Cichlasoma dimerus*. A: mancha ocular roja; B: mancha preopercular, C: línea longitudinal anterior; D: mancha central del tronco; E: mancha posterior longitudinal; F: mancha peduncular; G: barras transversales dorsales; H: barras transversales ventrales. Estas estructuras pueden cambiar su intensidad y "prenderse" o "apagarse", de forma más o menos independientemente, generando diferentes combinaciones que producen variados patrones de coloración en respuesta diferentes contextos sociales o ambientales.

b) Individuos Gregarios, no presentan una jerarquía de dominancia

c) Macho Reproductivo Territorial (RT).

d) Hembra Reproductiva Territorial (RT).

e) Macho no Reproductivo Territorial (nRT)

f) Individuo no Reproductivo no Territorial (nRnT).

Dominancia: RT>nRT>nRnT.

Barra de escala≈1cm.

Tabla 3. Descripción de los patrones de coloración observados en los diferentes estatus sociales (Figura 6). Los individuos territoriales presentan una coloración brillante colorida, mientras que los no territoriales, una oscura y opaca. Además, los individuos reproductivos muestran un oscurecimiento intenso de la región ventral. Las bandas transversales se intensifican durante las interacciones agresivas y la alimentación.

ESTATUS SOCIAL	DESCRIPCIÓN DEL PATRÓN DE COLORACIÓN OBSERVADO
Gregario	Color de fondo pálido. Región dorsal grisácea y región ventral blanquecina. Bandas transversales pueden estar presentes pero siempre grises y muy poco marcadas.
Macho Reproductivo Territorial (♂RT)	Coloración de fondo puede variar de azul o verde a amarillo, generalmente azul verdoso. Región ventral y aleta anal grises. Aletas pectorales negras. Región ventral de la cabeza por debajo de la boca y zona del opérculo, grises oscuras. Bandas transversales ventrales oscuras, especialmente aquellas de la mitad posterior. El oscurecimiento general está intensificado durante la puesta y el cuidado de las crías mientras que no es tan marcado en la época pre-puesta.
Hembra Reproductiva Territorial (♀RT)	Similar al ♂RT, aunque la coloración de fondo es generalmente verdosa y el oscurecimiento de la porción ventral y las aletas pélvicas es generalmente más conspicuo, especialmente en los opérculos. Esta última diferencia es más evidente en el periodo pre-puesta cuando la hembra está más oscurecida que el macho.
Macho no reproductivo Territorial (♂nRT)	Coloración de fondo brillante y colorida, similar a la de los individuos reproductivos, aunque generalmente es más amarillenta y no tan brillante. Difiere de la coloración reproductiva por no presentar el oscurecimiento característico de la porción ventral, y de las aletas ventrales y anal. Las líneas transversales no muy conspicuas, pueden no estar presentes.
Individuo no reproductivo no Territorial (nRnT)	Coloración de fondo oscura. Bandas transversales siempre presentes. Los colores brillantes nunca están presentes.

3.1.4. Comportamiento social: Establecimiento de los territorios

Una vez que los animales fueron colocados en los diferentes acuarios, en algunas ocasiones se observaron algunas interacciones agresivas esporádicas durante los primeros minutos posteriores a haber colocado a los individuos en el acuario, pero que se disipaban por completo en poco tiempo. En esta etapa los animales mostraron un comportamiento gregario (tendencia a agregarse o formar un grupo con otros del mismo tipo), asociado a una coloración corporal pálida característica (Figura 6.b). Los animales no estaban muy activos en este momento y casi no se observaron interacciones agresivas. Sin embargo, al día siguiente, los animales empiezan a mostrar una actividad exploratoria y un comportamiento más activo y se observó un considerable incremento de las interacciones agresivas, las que fueron clasificadas en dos tipos: 1) de contacto físico y 2) de amenaza (Tabla 4, Figura 7).



Figura 7. Fotografía mostrando una interacción agresiva de contacto físico denominada "agarrada de boca".

Las agresiones de contacto físico (por ejemplo Figuras 7 y 8) fueron normalmente precedidas por despliegues de amenaza, especialmente durante el establecimiento de los territorios y de las jerarquías sociales, que empiezan con la delimitación de un territorio por aquellos individuos más dominantes de la jerarquía. En este experimento el macho más grande del acuario fue totalmente dominante sobre los otros y siempre defendió un territorio cercano al fondo, en un extremo del acuario y delimitado por la barrera de plantas y piedras situadas en el centro del mismo. Cuando otro individuo ingresaba en el territorio era rápidamente perseguido y atacado. Estos individuos fueron definidos como machos Reproductivos Territoriales (♂RT) (Figura 2), y presentaron una coloración característica (Figura 6.c y Tabla 3). La hembra, que formó pareja con este macho, fue denominada hembra reproductiva territorial (♀RT) (Tabla 3 y Figura 6.d). Simultáneamente, otro macho, que nunca se reprodujo, defendió un territorio en el lado opuesto del acuario del resto de individuos aunque era continuamente atacado por la pareja reproductiva (♂RT y ♀RT). Este animal fue denominado macho no reproductivo territorial (♂nRT) y era fácilmente reconocible, no sólo por su posición en el acuario, sino también por su patrón de coloración (Figura 6.e). Aquellos individuos que no podían defender un territorio fueron clasificados como no reproductivos no territoriales (nRnT). Los mismos se escondían entre las plantas flotantes del acuario presentando un patrón de coloración característico (Figura 6.f) y las aletas impares retraídas. Los machos nRT y los individuos nRnT presentaron despliegues de sumisión, como escape y retracción de aletas, frente a los individuos dominantes.

Tabla 4. Etograma que enumera y clasifica el repertorio de comportamientos agresivos, de sumisión y reproductivos de *Cichlasoma dimerus*.

Interacciones Sociales		
Despliegues Agresivos	de Contacto Físico	Mordida Golpe de cola Agarrada de Boca
	de Amenaza	Erección de las aletas Persecución Apertura de opérculos Sacudida de la cabeza Sacudida del cuerpo
Despliegues de Sumisión		Escape Retracción de aletas
Despliegues Reproductivos		Erección de aletas Apertura de opérculos Sacudida de la Cabeza Sacudida de cola Sacudida del cuerpo Mordida de piedras Movimientos ondulatorios sobre el sustrato de puesta (SP) Frotado de la papila genital sobre el SP Cuerpo en forma de S y sacudidas sobre el SP Cavado de nido tomando piedras con la boca Abanicado de los huevos con aletas pectorales Sacudida de la aleta pélvica

3.1.5. Comportamiento Reproductivo

3.1.5.1. *Prepuesta*

Varios días luego de que los animales fueran transferidos a los acuarios experimentales, los territorios se establecen progresivamente. En la Figura 2, se muestra la distribución de los individuos de diferentes estatus sociales. El macho RT defiende agresivamente un territorio donde se encuentra el futuro sitio de puesta, que normalmente será una piedra plana sobre la grava del fondo. Aparentemente preferirían superficies horizontales, lisas y duras de 100 cm² o más. En este momento el macho toma piedras con la boca, muerde la superficie donde se realizará la puesta, ondula su cuerpo sobre ésta y pasa su

papila genital por la misma. Algunas hembras que se acercan son expulsadas del territorio por el macho, que exhibe una coloración brillante de fondo (Figura 6.c). Cuando una hembra es aceptada en el territorio el macho realiza despliegues como sacudidas de cuerpo, sacudidas de la cola sobre el cuerpo de la hembra, curvatura del cuerpo en forma de S, erección de aletas y apertura de opérculos, e incluso pueden darse agarradas de boca (Tabla 4). Llamativamente muchos de estos despliegues comportamentales reproductivos son utilizados también como despliegues de "amenaza" con otros individuos. Como sólo hubo un ♂RT por acuario en el presente experimento, no es posible establecer si las hembras eligen entre diferentes ♂RTs. Cuando se formó la pareja, la ♀RT (Figura 2, 6.f) pasó a defender el territorio junto con el macho y ambos adquirieron una coloración característica con la región ventral oscurecida. Se observó también que en todos los estatus sociales las líneas transversales se oscurecían durante los comportamientos agresivos (Figura 8).





Figura 8. Interacciones sociales agresivas. En la foto de la página anterior (8.B) se observa un macho Reproductivo Territorial atacando a un macho no Reproductivo Territorial (♂nRT). En la foto de arriba (8.B) se aprecia a una hembra reproductiva atacando a un ♂nRT.

3.1.5.2. Puesta y cuidado parental

Cichlasoma dimerus presenta cuidado biparental de la progenie. Al principio, el macho y la hembra comienzan a frotar su papila genital sobre el sustrato de puesta sin depositar huevos y limpian la misma con sus bocas. El macho sacude su cuerpo sobre la misma con las aletas desplegadas y los opérculos abiertos, enseñándole sus flancos a la hembra y luego, agita su cola en dirección a ésta. Seguidamente, la hembra pasa a depositar una hilera de alrededor de 10 huevos sobre el sustrato de puesta, al cabo de lo cual, el macho pasa sobre éstos fecundándolos (Figura 9.a). Este proceso se repite iterativamente y puede durar hasta 90 minutos en los que, por lo general, se depositan entre 400 y 800 huevos, dependiendo del tamaño de la hembra (Figura 9.b). El número de huevos depositados puede estar limitado por la superficie de puesta disponible. Luego de la puesta, ambos progenitores cuidan de la misma, defendiéndola de otros animales y atacando cualquier intruso en su territorio. Ambos progenitores se alternan para abanicar los huevos con sus aletas pectorales. Cuando uno de éstos deja la puesta para alimentarse o atacar a un intruso, el otro generalmente se queda cuidando los huevos o las larvas. En consecuencia, es muy inusual ver a la puesta sin alguno de los progenitores cuidándola (Figura 9.c). Los huevos muertos o no fecundados toman un aspecto blanquecino y son comidos por los progenitores, quienes además en esta etapa comienzan a cavar pozos en la grava realizando nidos de alrededor de 10-20cm de diámetro y 5-10 cm de profundidad donde serán transferidas las larvas luego de la eclosión, la que ocurre

al principio del tercer día a una temperatura de 25°C (Figura 9.d). Las larvas permanecen adheridas al sustrato durante 6 días, por medio de 3 glándulas adhesivas presentes en sus cabezas (Meijide y Guerrero, 2000). Durante este período son sucesivamente trasladados a los diferentes pozos cavados previamente. Las larvas comienzan a nadar libremente a los 8 días post-fecundación (Figura 9.e), momento en el cual la pareja reproductiva (♂RT y ♀RT) aumenta el tamaño de su territorio y su agresividad hacia los individuos subordinados (♂nRT e individuos nRnT) atacándolos continuamente (Figura 8). Las larvas siguen a la pareja reproductiva forrajeando por el fondo y ambos progenitores parecen atraerlas con sacudidas de sus aletas pélvicas, que se presentan oscurecidas durante el período reproductivo. Este último comportamiento se ve intensificado cuando se producen perturbaciones cerca del acuario. Como se describe aquí, el mismo color oscuro fue observado en la zona ventral del tronco y la cabeza en ambos progenitores. El experimento concluyó en esta etapa.



Figura 9. Fases reproductivas: **a)** Hembra poniendo una hilera de huevos mientras el macho espera para fecundarlos. Luego, el macho pasa sobre éstos y los fecunda. Este proceso se repite iterativamente; **b)** Puesta en una piedra de pizarra oscura. Generalmente, entre 400-800 huevos son puestos, dependiendo del tamaño de la hembra; **c)** Hembra cuidando los huevos mientras el macho de la pareja ataca a un macho "intruso". Generalmente uno de los progenitores se queda cuidando a la puesta o a las larvas mientras el otro se alimenta o defiende el territorio; **d)** Hembra abanicando las larvas, que aún no nadan libremente, con las aletas pectorales. Las larvas eclosionan al comienzo del 3^{er} día post-puesta y son sucesivamente transferidas a pozos previamente realizados por los progenitores en la grava; **e)** Macho cuidando de larvas de natación libre (8 días post-puesta); los progenitores parecen atraer a las crías sacudiendo sus oscurecidas aletas pélvicas.

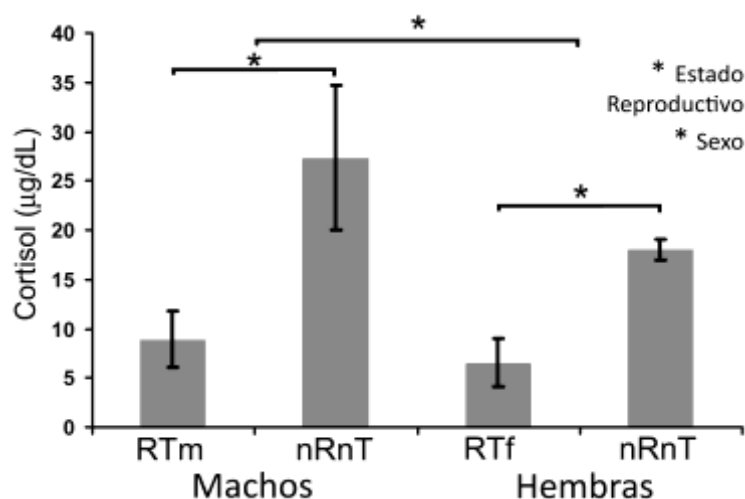
3.1.6. Índices gonadosomáticos

Los índices gonadosomáticos (IG) no difirieron significativamente entre los ♂RT ($0,18 \pm 0,05$) y los ♂nRnT ($0,10 \pm 0,02$), aunque en promedio los ♂RT en nuestro experimento tuvieron índices gonadosomáticos 80% mayores que los ♂nRnT. En las hembras tampoco se detectaron diferencias significativas aunque también se observó una tendencia (♀nRnT: $4,2 \pm 0,9$ vs. ♀RT: $1,6 \pm 0,4$; lo que equivale a un 37% en promedio del IG de las ♀nRnT, que no pusieron huevos en el experimento).

3.1.7. Niveles plasmáticos de cortisol

Tanto los ♂ como las ♀ nRnT presentaron una concentración plasmática de cortisol aproximadamente 3 veces mayor que los ejemplares RT de su correspondiente sexo. A su vez, los machos presentaron en promedio un 37% más de cortisol plasmático que las hembras (Figura 10).

Figura 10. Concentraciones plasmáticas de cortisol en machos y hembras reproductivos territoriales (RT) y no reproductivos no territoriales (nRnT) ($n=4$). Los niveles de cortisol en plasma fueron mayores en machos que en hembras. Los individuos no reproductivos (nRnT) presentaron niveles más elevados que los reproductivos (RT) para ambos sexos ($p < 0,05$). Un ANAVA de tres factores fue realizado para estos datos. No se detectó una interacción significativa entre los factores sexo y estado reproductivo. Los asteriscos indican diferencias significativas a un nivel de $\alpha=0,05$ para los factores "sexo" (machos vs. hembras) y "estado reproductivo" (reproductivo vs. no reproductivo).



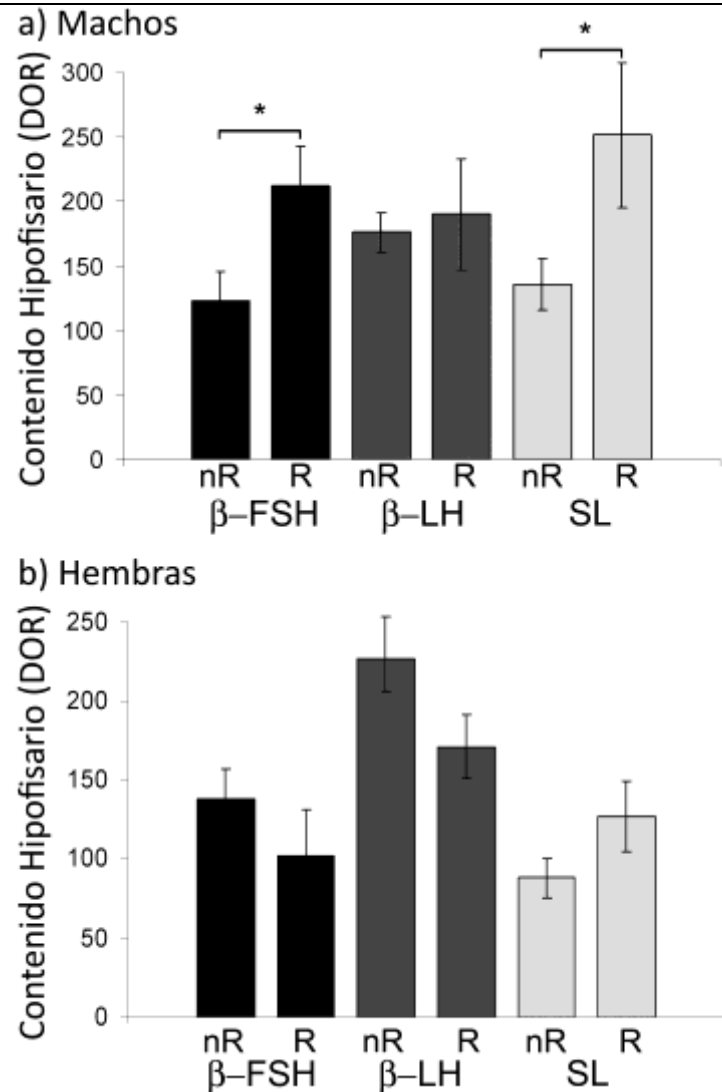
3.1.8. Contenido hipofisario de β -FSH, β -LH y SL

La densidad óptica relativa de las bandas de β -FSH, β -LH y SL (normalizadas a α -tubulina) fue calculada para testear la hipótesis de que el estatus social afecta el contenido hipofisario de estas hormonas. En los machos se observó que aquellos RT, respecto a los nRnT, tenían aproximadamente 70% más contenido hipofisario de β -FSH y 84% más de SL, mientras que no se detectaron diferencias en el contenido de β -LH (Figura 11.a). En tanto en las hembras, no se detectaron diferencias significativas entre estos estatus sociales para ninguna de las hormonas hipofisarias medidas (Figura 11.b).

Figura 11. Análisis semi-cuantitativo del contenido hipofisario de individuos reproductivos (R) y no reproductivos (nR) (N=4). Valores expresados en unidades arbitrarias como la media \pm EE y normalizados a α -tubulina. DOR=Densidad Óptica Relativa. Asteriscos indican una diferencia significativa estadísticamente a $\alpha=0,05$ con un test de Mann-Whitney.

a) Machos: un mayor contenido hipofisario de β -FSH y SL fue observado en machos R comparados con aquellos nR ($p<0,05$).

b) Hembras: No se detectaron diferencias significativas en el contenido hipofisario de β -LH, β -FSH, y SL entre hembras R y nR.



3.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social

3.2.1. Jerarquía social, pareja reproductiva y oportunidad de ascenso social

Bajo las presentes condiciones experimentales y en todas las réplicas de los experimentos, el individuo que formó la pareja reproductiva siempre fue aquel de rango más alto (mayor ID) en la jerarquía social del correspondiente sexo. Cuando uno de estos individuos era retirado, el segundo en la jerarquía rápidamente ascendía de estatus social a un estado reproductivo y formaba una pareja con el restante miembro de la pareja original. Cuando el individuo reproductivo era reintroducido en un nuevo acuario junto al resto de los peces, éste desplazaba al recientemente ascendido, restableciéndose la pareja original y volviéndose a establecer la jerarquía social inicial del experimento.

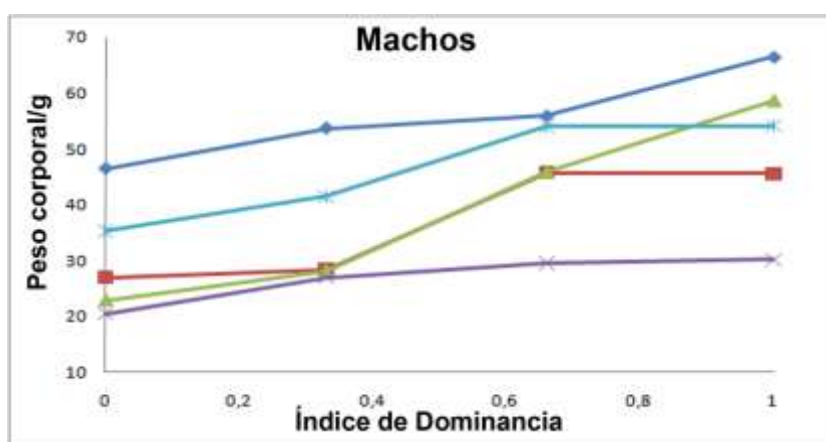
El macho reproductivo siempre fue el más grande (LE y peso corporal), y el segundo en la jerarquía era el que le seguía en tamaño. (Figuras 12 y 13). En cambio, las hembras que formaron la pareja reproductiva original, tanto como las que ascendieron de estatus social

no fueron las más grandes, pero sí las de mayor jerarquía social, aunque ésta no pudo ser correlacionada con ninguna de las variables morfométricas analizadas.

Los machos fueron cuantitativamente mucho más agresivos que las hembras y también los individuos reproductivos en comparación con aquellos no reproductivos, particularmente hacia los de menor rango en la jerarquía.

Una correlación cualitativa entre el color y la dominancia fue observada, con aquellos animales de un rango mayor en la jerarquía (mayor ID) resultando más brillantes y coloridos, característica más acentuada aún en los machos, que los de menor rango (menor ID), que presentaron una coloración más oscura. Además, los animales de menor rango generalmente permanecieron cerca de la superficie del acuario mientras que los de mayor jerarquía ocuparon preferentemente territorios en el fondo del mismo.

Figura 12. Relación entre el peso corporal y los índices de dominancia (ID) en los machos. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula y coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Una correlación positiva fue encontrada entre el orden del peso

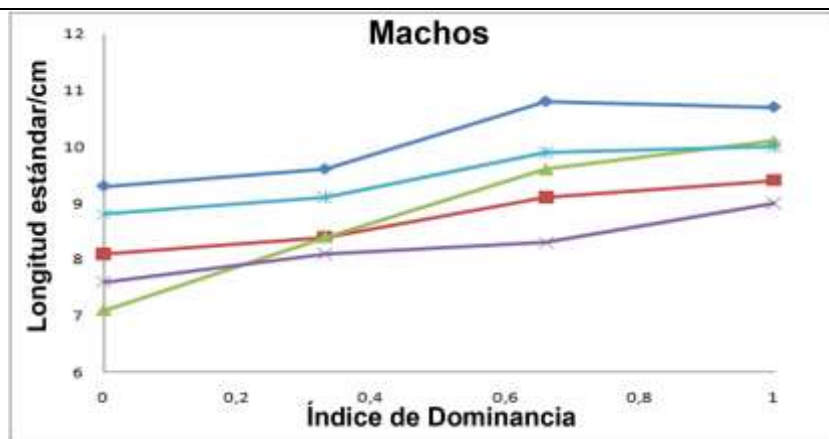


corporal en cada experimento y los ID ($r=0,84$; $p=0,00024$; $\alpha=0,05$). Los valores de los individuos del mismo experimento se presentan conectados por líneas y comparten el mismo color y símbolo.

3.2.2. Relación entre el tamaño de los individuos y la dominancia

En el caso de los machos, se encontró una correlación positiva entre la dominancia (ID) y el peso corporal ($r=0,84$; $p=0,00024$; Figura 12) y entre la dominancia (ID) y longitud estándar (LE) ($r=0,87$; $p=0,00014$; Figura 13). Los machos de mayor jerarquía tienen mayor peso corporal y LE que aquellos de un rango inferior. Estas correlaciones no se encontraron en las hembras (para LE: $r=-0,45$, $p=0,14$; y para el peso corporal: $r=-0,38$, $p=0,2$).

Figura 13. Relación entre la longitud estándar (LE) y los índices de dominancia (ID) en los machos. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula y coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Una correlación positiva fue encontrada entre el orden



de la LE en cada experimento y los ID ($r=0,87$; $p=0,00014$; $\alpha=0,05$). Los valores de los individuos del mismo experimento se presentan conectados por líneas y comparten el mismo color y símbolo.

3.2.3. Relación entre los índices organosomáticos y la dominancia

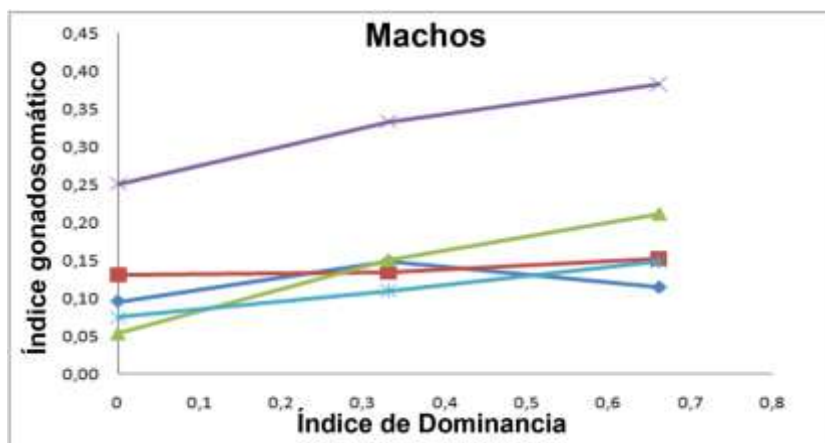
Se encontró una correlación positiva entre la dominancia y los índices gonadosomáticos para los machos ($r=0,91$; $p=0,00066$; Figura 14). Los machos de mayor jerarquía (mayor ID) presentaron mayores índices gonadosomáticos que los de menor jerarquía. Las otras correlaciones puestas a prueba, entre los índices bazo (IB) y hepatosomáticos (IH) con la dominancia, fueron no significativas estadísticamente (Tabla 5), reflejando que el estado metabólico e inmune de los peces era similar entre las diferentes jerarquías ($IH=1,8\pm 0,1$; $IB=0,08\pm 0,01$).

Las hembras de mayor jerarquía social y aquellas que ascendieron en la jerarquía social no fueron las que tenían los índices gonadosomáticos mayores ni las que tenían los mayores pesos absolutos de sus ovarios. No se encontraron correlaciones entre los índices y la dominancia para este sexo.

Tabla 5. Correlaciones entre los índices organosomáticos y los índices de dominancia. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula (p) y coeficiente de correlación de rangos de Spearman (r).

Variables correlacionadas con los índices de dominancia				
Índice	Machos		Hembras	
	r	p	r	p
Bazosomático	0,22	0,4	0,33	0,38
Hepatosomático	0,11	0,69	-0,05	0,89
Gonadosomático	0,91	$6,6 \times 10^{-4}$	0,25	0,48

Figura 14. Relación entre los índices gonadosomáticos (IG) y los índices de dominancia (ID) en los machos no reproductivos. Los individuos reproductivos no fueron incluidos en este gráfico ni en el análisis estadístico. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y



analizados juntos con un test de correlación nula y coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Una correlación positiva fue encontrada entre el orden de los IG en cada experimento y los ID ($r=0,91$; $p=0,00066$; $\alpha=0,05$). Los valores de los individuos del mismo experimento se presentan conectados por líneas y comparten el mismo color y símbolo.

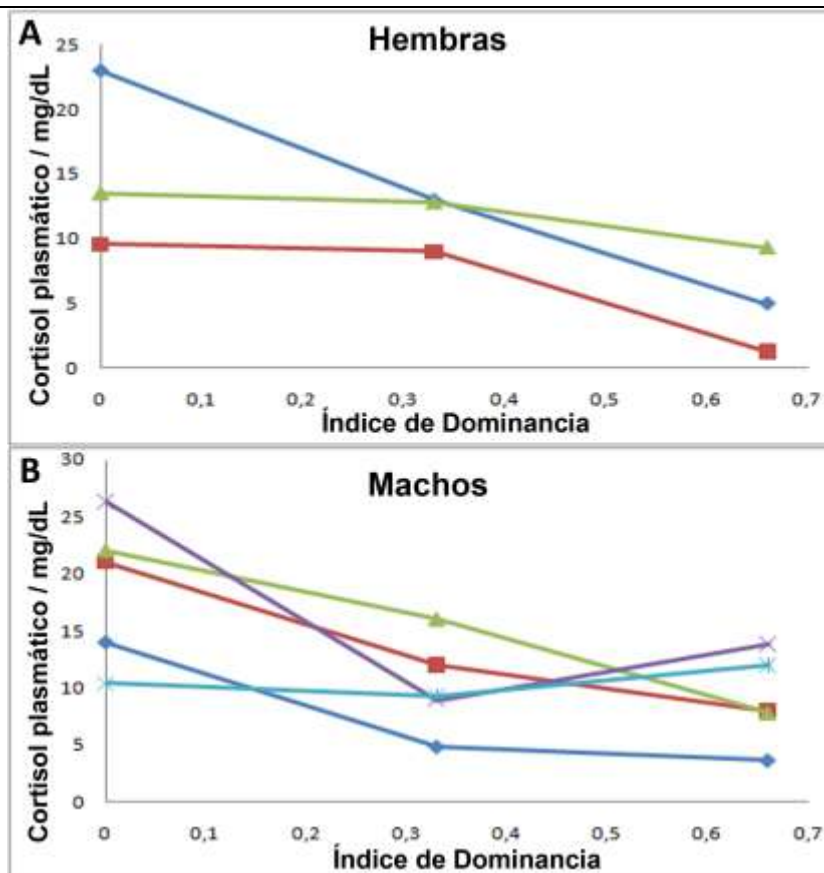
3.2.4. La dominancia y las concentraciones plasmáticas de cortisol

Se encontró una correlación negativa entre las concentraciones plasmáticas de cortisol y la dominancia para las hembras ($r=-0,8$; $p=0,02$; Figura 15.A) y para los machos ($r=-0,61$; $p=0,02$; Figura 15.B). Para ambos sexos, los peces de menor jerarquía presentaron mayores niveles de cortisol plasmático. Se presentan los valores medios en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentración de cortisol en mg/dL para los individuos de diferentes jerarquías.

	ID	Media (mg/dL)	EE
Hembras	0,66	5,2	2,3
	0,33	11,6	1,3
	0,00	15,4	4,0
Machos	0,66	9,0	1,8
	0,33	10,2	1,9
	0,00	18,7	2,9

Figura 15. Relación entre las concentraciones plasmáticas de cortisol (C) y los índices de dominancia (ID) en las hembras (A) y en los machos (B) no reproductivos. Los individuos reproductivos no fueron incluidos en este gráfico ni en el análisis estadístico. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula y coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Una correlación negativa fue encontrada entre el orden de las concentraciones plasmáticas de C en cada experimento y los ID (para las hembras: $r=-0,8$; $p=0,02$; y para los machos $r=-0,61$; $p=0,02$; $\alpha=0,05$). Los valores de los individuos del mismo experimento se presentan conectados por líneas y comparten el mismo color y símbolo.



3.2.5. La dominancia y las concentraciones de testosterona y 11-cetotestosterona

No se encontró una correlación significativa entre las concentraciones plasmáticas de 11-cetotestosterona y la dominancia, ni en el caso de los machos ($p=0,32$), ni en el de las hembras ($p=0,26$). Asimismo, tampoco se detectó una correlación entre los niveles plasmáticos de testosterona con la dominancia (Machos: $p=0,94$; Hembras: $p=0,26$). Se presentan los valores medios en la Tabla 7.

Tabla 7. Concentración plasmática de Testosterona y 11-cetotestosterona para los individuos de diferentes jerarquías.

Sexo	ID	Testosterona		11 cetotestosterona	
		Media (ng/mL)	EE	Media (ng/mL)	EE
Hembras	0,66	7,8	1,9	0,19	0,03
	0,33	3,7	1,6	0,14	0,05
	0,00	3,9	1,4	0,15	0,05
Machos	0,66	2,2	0,6	0,35	0,06
	0,33	2,0	0,4	0,39	0,11
	0,00	1,5	0,3	0,26	0,06

3.2.6. La dominancia y el contenido hipofisario de β -FSH, β -LH y SL

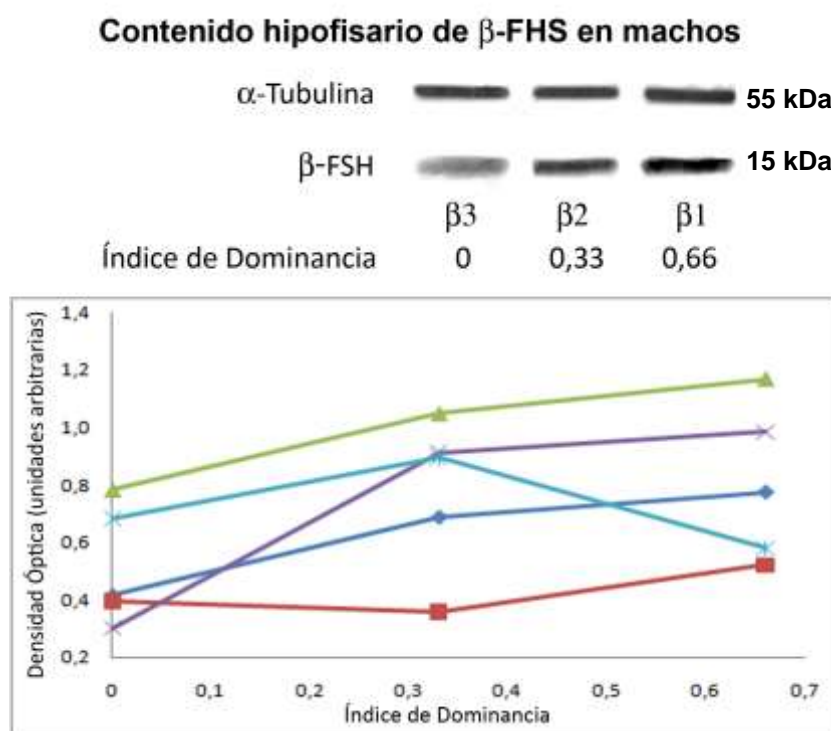
Para los machos, se encontró una correlación positiva entre la dominancia y el contenido hipofisario de β -FSH ($r=0,91$; $p= 0,00066$; Figure 16). Los machos de mayor jerarquía presentaron mayor contenido hipofisario de β -FSH que aquellos de menor jerarquía. No se detectaron correlaciones para las otras hormonas hipofisarias medidas con respecto a la dominancia entre los individuos no reproductivos (Tabla 8).

Tabla 8. Correlaciones entre el contenido hipofisario de las hormonas seleccionadas y los índices de dominancia. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula (p) y coeficiente de correlación de rangos de Spearman (r).

Variables correlacionadas con los índices de dominancia				
Contenido hipofisario de	Machos		Hembras	
	r	p	r	p
β -FSH	0,91	$6,6 \times 10^{-4}$	-0,05	0,88
β -LH	0,46	0,08	-0,20	0,57
SL	0,46	0,08	-0,65	0,06

Figura 16. Relación entre el contenido hipofisario de β -FSH y los índices de dominancia (ID) en los machos no reproductivos. Los individuos reproductivos no fueron incluidos en este gráfico ni en el análisis estadístico. Los datos fueron transformados a una escala ordinal dentro de cada experimento y analizados juntos con un test de correlación nula y coeficiente de correlación de rangos de Spearman. Una correlación positiva fue encontrada entre el orden del contenido hipofisario de β -FSH en cada experimento y los ID

($r=0,91$; $p= 0,00066$; $\alpha=0,05$). Los valores de los individuos del mismo experimento se presentan conectados por líneas y comparten el mismo color y símbolo.



4. DISCUSIÓN

"Hay algo que da esplendor a cuanto existe, y es la ilusión de encontrar algo a la vuelta de la esquina."

El candor del padre Brown, Gilbert Keith Chesterton.

Esta tesis describe y caracteriza, a través de un primer experimento, el comportamiento social y reproductivo de *C. dimerus* en condiciones de laboratorio, incluyendo el establecimiento de la jerarquía de dominancia, los diferentes estatus sociales y sus patrones de coloración corporal asociados. En un segundo experimento fueron descritas las jerarquías de dominancia de los individuos no reproductivos y su relación con la fisiología reproductiva, patrones de coloración y su probabilidad de ascender de estatus social en función de la posición que ocupa cada individuo en la jerarquía de dominancia, a través de experimentos independientes para ambos sexos.

4.1. Experimento 1: Fisiología y comportamiento social y reproductivo

Durante la temporada de baja temperatura y de fotoperiodo corto, *C. dimerus* no se reproduce y presenta un comportamiento gregario y un patrón de coloración característico. En esta especie, el fotoperiodo corto reduce la agresividad de los machos, tanto la relacionada a la selección de territorio como la relacionada a su defensa. Además, cuando se evaluó la preferencia de los machos por hembras expuestas a fotoperiodo corto y a fotoperiodo largo, se observó que los mismos nunca elegían a las hembras de fotoperiodo corto (Fiszbein *et al.*, 2010). Esto indica que el fotoperiodo corto inhibe el comportamiento reproductivo y, en consecuencia, disminuye la agresividad relacionada al mismo. A su vez, observaciones personales en acuarios al aire libre permitieron constatar que las jerarquías sociales no se mantienen durante esta época y que prácticamente no se observan interacciones agresivas entre los individuos, de lo que se infiere que las jerarquías sociales probablemente están directamente relacionadas a cuestiones reproductivas.

El comienzo de la temporada cálida, de mayores temperaturas y de fotoperiodo largo marca el inicio de las interacciones sociales que determinan la jerarquía social de los individuos en esta especie. El tamaño de los individuos es probablemente el factor más importante en el establecimiento de dichas jerarquías, lo que posiblemente esté relacionado con la fuerza de los animales. Esto se apoya en la observación de que las jerarquías son establecidas por interacciones agresivas, que incluyen el contacto físico. Todos los despliegues de amenaza tienen el efecto común de hacer parecer al pez "lo más grande posible" al maximizar su área visible. Esto podría estar relacionado con que el tamaño corporal podría ser un buen indicador de la fuerza del individuo y podría explicar porqué en los experimentos realizados, el macho reproductivo territorial, que era

dominante sobre el resto, fue siempre el más grande. En el cíclido convicto *Amatitlania nigrofasciata*, las hembras no mostraron preferencias basadas en la experiencia reproductiva del macho o en su estatus social, pero sí mostraron preferencia por el más grande entre dos machos (Noonan *et al.*, 1983; Gagliardi-Seeley *et al.*, 2009). A su vez, se ha observado también que los machos de esta especie prefieren hembras grávidas sobre no grávidas, y la más grande entre dos hembras grávidas (Nuttall y Keenleyside, 1993). En observaciones de campo en *A. nigrofasciata*, se observó que los individuos reproductivos se apareaban de acuerdo a su tamaño, los machos más grandes con las hembras más grandes y las hembras más pequeñas con los machos más pequeños. Los machos pequeños, y en algunos casos, las hembras más pequeñas, no fueron observados reproduciéndose (Wisenden, 1995).

Una característica sobresaliente del comportamiento de *C. dimerus* es que la mayoría de los despliegues reproductivos realizados fueron iguales a los utilizados como despliegues de amenaza. Esta convergencia sugiere que probablemente estas características seleccionadas primero intrasexualmente, fueron luego seleccionadas intersexualmente (revisado en Anderson, 1994) y cooptadas como despliegues reproductivos ya que podrían ser buenos predictores de la capacidad del macho de obtener una buena posición en la jerarquía y entonces, la preferencia de las hembras por estas características estaría correlacionada con un valor adaptativo positivo para las mismas. Esto también sería válido para explicar el hecho de que los machos sean más grandes que las hembras, habiéndose seleccionado esta característica por selección inter e intrasexual.

Como fue observado en *C. dimerus*, las hembras del cíclido convicto, en lugar de seleccionar un macho por sobre otro al principio del periodo de cortejo, continúan visitando a ambos machos hasta el momento de la puesta. Se ha sugerido que este comportamiento podría tratarse de una táctica de reaseguro y no de indecisión de la hembra (Gagliardi-Seeley *et al.*, 2009). A su vez, se observó una mayor agresividad en machos que en hembras durante el periodo prepuesta y las hembras invirtieron más tiempo que los machos en el cuidado parental, al igual que en el cíclido convicto (Gagliardi-Seeley *et al.*, 2009). Como en el cíclido neotropical *Amphilophus citrinellus* (Rogers, 1987), los machos de *C. dimerus* presentaron mayor agresividad (número de despliegues agresivos) hacia otros machos que hacia otras hembras.

En *C. dimerus* aquellos individuos que adquieren territorios reproductivos presentan su fisiología adecuada para la posibilidad de reproducirse y muestran una coloración intensa y brillante de fondo, opuesta a la coloración oscura de fondo de los individuos nRnT, lo que probablemente sea un despliegue de sumisión. En el cíclido Convicto se observó que el dicromatismo sexual afectaba la agresión intrasexual entre las hembras (Beeching *et al.*, 1998). En *C. dimerus*, aquellos peces con un rango menor en la jerarquía social, no obtuvieron territorios reproductivos y se ubicaron debajo de las hojas de las plantas

flotantes del acuario, defendiendo agresivamente su posición frente a otros individuos de menor rango en la jerarquía social. El mantenimiento de una jerarquía de dominancia entre los individuos no reproductivos parece estar no solamente relacionado con el acceso a recursos como alimento (ej.: insectos que viven entre las plantas) y refugio, sino que también podría eventualmente, determinar el acceso a nuevos territorios reproductivos debido a la muerte de los individuos reproductivos, o cambios ambientales, como por ejemplo inundaciones de zonas aledañas.

Los rápidos y complejos cambios en el patrón de coloración de estos peces les confieren un sistema capaz de generar un gran número de señales en distintos contextos y de enviar esa información rápidamente, lo cual refuerza el concepto de que las claves visuales son muy importantes en la comunicación de los peces en general. Esta característica de su comunicación social puede tener un valor adaptativo positivo al permitir una adecuación rápida a cambios en el estatus social y el ambiente. Los cambios de coloración relacionados a las bandas oscuras, líneas y manchas del cuerpo fueron rápidos, sugiriendo que los mismos están probablemente controlados por el sistema nervioso, aunque los cambios en la coloración de fondo del pez son adecuaciones de más largo término y, en consecuencia, es más probable que estén bajo control endocrino.

A su vez, la gran variabilidad intraindividual en el patrón de coloración que presentan las especies de cíclidos probablemente está relacionada no sólo con cuestiones sociales sino también con la diversidad y variabilidad de los ambientes en los que éstos habitan. De esta forma, el patrón de coloración será más o menos conspicuo o críptico dependiendo del contexto ambiental en el que se encuentren los individuos. En consecuencia, la respuesta a nivel del patrón de coloración corporal frente a un determinado contexto social podría ser diferente en distintos ambientes con diferentes colores y patrones de fondo, ya que para que, por ejemplo, una señal visual resulte conspicua, ésta debe ser diferente a la señal visual del fondo. Este efecto pudo observarse en poblaciones naturales del pez killi (Cyprinodontiformes) de aleta azul *Lucania goodei*, en el cual, poblaciones con diferentes tipos de luminosidad de fondo presentaban diferentes proporciones de morfos de patrones de coloración (Fuller, 2002).

Por otra parte, las similitudes entre los comportamientos de diferentes especies de cíclidos neotropicales indicarían que algunos de estos patrones de comportamiento han sido conservados durante la evolución de este linaje o que convergieron debido a presiones selectivas similares relacionadas a vivir en hábitats similares. Sin embargo, la primera hipótesis podría ser la más parsimoniosa ya que hay otras numerosas características compartidas por estas especies, como el patrón de coloración (ej.: brillante y colorido en los dominantes, bandas verticales oscuras, etc.). Para una mejor comprensión de la evolución del comportamiento y la fisiología reproductiva de los cíclidos, deberían realizarse estudios filogenéticos que incluyan contrastes independientes con estos caracteres.

En el cíclido africano *Astatotilapia burtoni*, (= *Haplochromis burtoni*), los machos territoriales modifican sus patrones de coloración más rápido, pesan más y tienen los testículos con mayor IGS y maduros que los no-territoriales (Fernald, 2002). En grupos establecidos del altamente territorial cíclido africano *Neolamprologus pulcher*, que vive en grupos, los individuos dominantes tienen niveles más altos de andrógenos y una mayor inversión en términos energéticos, en gónadas que aquellos subordinados (Fitzpatrick *et al.*, 2006; Desjardins *et al.*, 2008) pero las concentraciones plasmáticas de andrógenos no se correlacionan con la inversión gonadal relativa en hembras o machos, ganadores o perdedores, luego de competir por un territorio (Taves *et al.*, 2009). Considerando el presente diseño experimental, en *C. dimerus* no se encontraron diferencias entre el IGs de los machos RT y los nRnT. Una hipótesis alternativa que podría explicar esto podría ser que dado que las oportunidades reproductivas pueden ocurrir en cualquier momento durante el periodo reproductivo, tendría un valor adaptativo positivo para los individuos nR estar siempre listos para reproducirse durante el mismo. Sin embargo, es probable que no se hayan detectado estas diferencias por la naturaleza de corto término del estudio, lo que pudo enmascarar un efecto del estatus social sobre la inversión gonadal que llegue a reflejarse en un aumento en el peso de las mismas. Además, el hecho de que los machos reproductivos fueran sacrificados 8 días post-puesta, puede haber resultado en bajos valores de IGs para estos individuos, ya que los mismos habrían espermiado hace poco tiempo (8 días).

El hecho de que diferentes concentraciones plasmáticas de cortisol estén relacionadas con el estatus social de los individuos, indicaría que los diferentes estatus sociales podrían implicar diferentes niveles de estrés. En ambos sexos, los individuos nRnT presentaron mayores niveles de cortisol plasmático que los RT. En *A. burtoni* fue claramente demostrado que los machos nT tenían mayores niveles plasmáticos de cortisol que los T, pero esto también era dependiente de las condiciones de las comunidades y el periodo de tiempo bajo estas condiciones (Fox *et al.*, 1997; White y Fernald, 1997). En *C. dimerus*, el cortisol podría actuar como una señal endógena relacionando el entorno social del animal con su comportamiento y estado reproductivo. Las agresiones de contacto físico de los individuos R hacia los nR podrían inhibir las señales que disparan la reproducción de los nR al incrementar los niveles de cortisol, excluyendo en consecuencia a estos individuos de la competencia por la reproducción con los R y dejando más recursos disponibles para la progenie de los individuos R. Los despliegues de sumisión tendrían mayor probabilidad de ocurrir en peces con altos niveles plasmáticos de cortisol, lo que probablemente podría tendría un valor adaptativo positivo si esto disminuyera los ataques hacia estos individuos de menor rango jerárquico por parte de los individuos de mayor rango. Las mayores concentraciones plasmáticas observadas en los machos en relación a las hembras podrían deberse a que los machos muestran mayor agresividad (mayor número de interacciones agresivas en el tiempo). Para dilucidar estas cuestiones, deberían realizarse manipulaciones experimentales del cortisol plasmático junto con experimentos comportamentales.

En *C. dimerus*, el menor contenido hipofisario de β -FSH en machos nR, en comparación con aquellos R, indicaría una inhibición de la síntesis y/o secreción de esta gonadotropina. Esto

podría deberse a una inhibición, a través del cortisol plasmático, de la síntesis o liberación de GnRH, ya que, por ejemplo, en ovejas se ha observado que incrementos en el cortisol plasmático disminuyen la frecuencia de los pulsos de liberación de GnRH (Oakley *et al.*, 2009). Sin embargo no podemos descartar un efecto debido a un nuevo comienzo de la espermatogénesis en los machos RT considerando que fueron muestreados 8 días luego de haber espermiado. El mayor contenido hipofisario de SL en los machos RT respecto a los nRnT, podría relacionarse con la coloración más brillante y colorida que presentan los mismos, probablemente vinculada con la defensa territorial, reproducción y cuidado parental. En estudios previos realizados en esta especie se observó que animales mantenidos en acuarios con fondo negro mostraban una coloración más oscura y mayor contenido hipofisario de SL que aquellos animales mantenidos con fondo blanco (Canepa *et al.*, 2006). A su vez, en hembras de pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) se encontraron diferencias en relación a SL asociadas al estado reproductivos de las mismas (Vissio *et al.*, 2002), sin embargo esas diferencias podrían estar más relacionadas a diferencias en el patrón de coloración de esos individuos que a una influencia directa de SL sobre el eje reproductivo. Por otro lado, en el presente trabajo no se encontraron diferencias significativas en el contenido hipofisario de β -FSH, β -LH, y SL entre las hembras RT y nRnT, aunque un posible efecto no puede descartarse debido a las limitaciones propias de las técnicas de semicuantificación y al relativamente bajo número de réplicas que implican una relativa baja potencia de las pruebas estadísticas al momento de detectar diferencias significativas, por lo que podría esperarse que diferencias sutiles no sean detectadas con esta metodología.

En resumen, los machos reproductivos presentaron un mayor contenido hipofisario de hormona folículo estimulante (β -FSH) y somatolactina (SL) en comparación con aquellos no reproductivos, mientras que no se encontraron diferencias entre las hembras. Tampoco se encontraron diferencias entre los índices gonadosomáticos (IGs) de los machos. Los individuos no reproductivos presentaron niveles plasmáticos mayores de cortisol para ambos sexos. Aunque los individuos reproductivos dominantes podrían estar inhibiendo la reproducción de los peces de menor jerarquía a través de interacciones de contacto físico, aumentando sus niveles de cortisol y disminuyendo, a través de esta última hormona, el contenido hipofisario de FSH y SL, esto no se vio reflejado a nivel gonadal en cuanto a los IGs.

Por otra parte, en este primer experimento se observó que los individuos inhibidos socialmente de reproducirse mantenían una jerarquía social entre ellos, característica que en general no ha sido muy estudiada en otras especies, ya sea porque probablemente los individuos no reproductivos han sido subestimados en los estudios, al igual que las hembras, o porque no han sido estudiados adecuadamente o, tal vez, porque en otras especies esta características no están presentes. En definitiva, dado que los individuos no reproductivos de esta especie mantienen una jerarquía social y que estos peces son normalmente depredados y sus ambientes naturales están sometidos a frecuentes

variaciones ambientales, como inundaciones, es probable que estas situaciones generen nuevas oportunidades de ascenso de estatus social y reproducción para estos individuos y que estas jerarquías observadas estén relacionadas con esta probabilidad de ascenso social y reproducción. En consecuencia se planteó un segundo experimento para poner a prueba la hipótesis de que la jerarquía social de los individuos inhibidos socialmente de reproducirse está correlacionada con la probabilidad, por parte de los mismos, de ascender a un estatus social reproductivo y, por lo tanto, éstos presentarían diferencias a nivel de su fisiología reproductiva asociadas con esta probabilidad; cuestión que supone que esto podría resultar ser de un valor adaptativo positivo.

4.2. Experimento 2: Oportunidad de ascenso en el estatus social

En este experimento, la jerarquía de los individuos no reproductivos de *C. dimerus* fue caracterizada independientemente para machos y hembras en condiciones de laboratorio. A su vez, se estudió la correlación de la jerarquía social con: variables morfométricas, peso corporal, índices organosomáticos, hormonas de origen adrenal relacionadas con cambios en el patrón de coloración (SL; Cánepa *et al.*, 2006), cortisol, andrógenos y hormonas de origen hipofisario relacionadas con la fisiología reproductiva (FSH, LH). La relación de estas variables con la oportunidad de ascenso social fue estudiada simultáneamente. Como resultado de estos análisis se observó que las jerarquías sociales eran lineales para ambos sexos. El rango de los individuos dentro de la jerarquía social de dominancia fue dependiente del tamaño, en los machos, aunque no en las hembras, en las que no se encontró una correlación de los índices de dominancia con la longitud estándar (LE) o con su peso. La jerarquía en las hembras parecería estar determinada por otras variables no medidas en el presente estudio, como la motivación o la personalidad, como fue observado en el killi de aleta azul *Lucania goodei* Jordan, 1880, en el cual se observó que ni el tipo comportamental ni la jerarquía social estaban asociados al tamaño o condición corporal (McGhee y Travis, 2010). La repetibilidad de tipos comportamentales y la estabilidad en los resultados de las interacciones agresivas sugieren que los fenotipos comportamentales son características inherentes de los individuos, más que respuestas a corto término a experiencias sociales recientes o niveles diarios de alimento o estrés y podrían potencialmente tener una base temprana ambiental o genética (McGhee y Travis, 2010).

Además, se estudió la relación entre la jerarquía de dominancia de los individuos no reproductivos y la probabilidad de ascenso en el estatus social, relacionada a una oportunidad de reproducción, en *C. dimerus*. Se encontró que los individuos no-reproductivos con el mayor rango social (el mayor índice de dominancia) fueron siempre aquellos que ascendieron a un estatus reproductivo cuando se generó la oportunidad de ascenso social al retirar al individuo reproductivo del mismo sexo. El mantenimiento de una jerarquía social entre los individuos no reproductivos parece estar directamente relacionado con la

probabilidad de ascenso en el estatus social. Sin embargo, podría también estar relacionado con el acceso a alimento y refugio, ya que los peces de menor rango en la jerarquía permanecían cerca de la superficie del agua, en una posición que los expondría a la depredación por parte de aves en sus ambientes naturales, lo cual fue constatado por observaciones personales en los hábitats de estos animales mencionados anteriormente.

Por otra parte, al estudiar la relación entre las concentraciones plasmáticas de cortisol de los individuos y sus respectivos índices de dominancia se encontró una correlación negativa entre los mismos. Por ello, se propone que el cortisol podría estar actuando como una señal endógena del estrés social debido a las interacciones agresivas entre los individuos y podría estar indirectamente mediando la coloración oscura de los individuos de menor rango, actuando ya sea directamente sobre los melanóforos o sobre las hormonas que controlan su estado de dispersión o agregación como SL o la hormona concentradora de melanocitos (MCH), que en peces se sintetiza en la neurohipofisis, favoreciendo un despliegue de sumisión por parte de los mismos como sería la coloración oscura y opaca de estos individuos. Eventualmente se podría esperar que aquellos individuos de mayor jerarquía, que presentan mayores niveles de agresividad, tengan niveles elevados de cortisol en plasma debido a que esta situación podría representar un nivel mayor de estrés para estos individuos. Sin embargo, en el presente experimento esto no resultó ser así; entre los individuos no reproductivos, los individuos de menor rango jerárquico fueron los que presentaron los mayores niveles de cortisol, lo que es coherente con que estos animales son los que perciben mayores niveles de agresividad y están, en consecuencia, en una situación de mayor estrés. Además, como se observó en el experimento 1, los individuos reproductivos, que resultaron ser más agresivos, tenían menores niveles de cortisol plasmático que aquellos no reproductivos. Esto indicaría que los niveles de estrés/cortisol no están tan relacionados con el nivel de agresividad "emitida" sino más bien con el nivel de agresividad "recibida".

En cuanto a la relación de los andrógenos (Testosterona (T) y 11-ceto-testosterona (11-KT)) con la dominancia no se encontraron correlaciones significativas entre los mismos para ninguno de los sexos. Si bien esto puede deberse al bajo número de réplicas del experimento (n=5 para machos, n=3 para hembras), estos resultados estarían en concordancia con la "hipótesis del desafío" que sostiene que durante períodos de estabilidad social los andrógenos de los machos son más bajos que durante períodos sociales inestables (Wingfield *et al.*, 1990), ya que, según esta hipótesis, podría esperarse entonces que los niveles de andrógenos aumenten mucho luego de la oportunidad de ascenso en el estatus social y no antes. En el cíclido africano *Astatotilapia burtoni*, los niveles de 11-KT en plasma aumentan 30 minutos después de la oportunidad de ascenso en el estatus social, coincidentemente con un incremento de la agresividad. Sin embargo, los comportamientos territoriales y los niveles plasmáticos de 11-KT se disocian a las 72 hs luego del ascenso en el estatus social, sugiriendo la existencia de una rápida estabilización

social y/o un potencial incremento en la capacidad de producción de andrógenos (Maruska y Fernald, 2010). Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que, antes de que se presente una oportunidad de ascenso en el estatus social, los andrógenos no variarían entre los individuos no-reproductivos de diferentes niveles jerárquicos, aunque sí se dispararía un incremento en los mismos cuando una oportunidad de ascenso social es percibida. Por otra parte, el hecho de que no se observen diferencias en LH, y tampoco en los andrógenos entre los individuos no reproductivos resulta coherente, ya que LH induce la producción y liberación de andrógenos. A su vez, en *Neolamprologus pulcher* (Trewavas y Poll, 1952), los niveles relativos de 11-KT y T están involucrados en el comportamiento de dominancia de las hembras (Taves *et al.*, 2009). Para dilucidar estas cuestiones en *C. dimerus*, deberían realizarse estudios de corto término sobre los cambios inducidos en la fisiología de los individuos por el cambio de estatus social.

En el experimento 1, se observó que los machos reproductivos de *C. dimerus* tenían mayor contenido hipofisario de FSH y SL que los no reproductivos, mientras que no se detectaron diferencias en los índices gonadosomáticos y, en el caso de las hembras, no se encontraron diferencias para ninguna de estas variables con la metodología utilizada. En el experimento 2, la dominancia de los machos no-reproductivos estuvo positivamente correlacionada con el contenido hipofisario de FSH y con los índices gonadosomáticos. Esto podría ser el resultado de la inhibición gonadal de los machos de menor jerarquía a través de menores niveles de FSH inducidos por un incremento del cortisol plasmático debido a las interacciones agresivas. Por lo tanto, la inhibición sobre FSH sería más fuerte en los individuos de menor rango, haciéndolos menos propensos a ascender de estatus social en estas condiciones. Este mecanismo regulatorio sería de un valor adaptativo positivo para estos individuos dado que éstos podrían invertir más energía en el crecimiento somático, dedicando menos energía a la defensa de un territorio, al despliegue de interacciones agresivas, y a la inversión reproductiva. De esta forma estos individuos podrían crecer más rápido y alcanzar una oportunidad reproductiva en el futuro, ascendiendo de rango en la jerarquía a través de un incremento en su tamaño. En concordancia con esta hipótesis, en el cíclido africano *Neolamprologus pulcher*, los peces menos agresivos crecen más rápido que aquellos más agresivos (Riebli *et al.*, 2011). Además, en *Astatotilapia burtoni* (Günther, 1894), los machos no territoriales y los animales que ascienden de estatus social mostraron un incremento en la tasa de crecimiento mientras que los machos territoriales y los animales que descendían de estatus social presentaron una tasa de crecimiento menor o incluso su tamaño se vio reducido (Hoffman *et al.*, 1999). No se detectó una inhibición en el eje reproductivo en las hembras no-reproductivas de *C. dimerus*, lo que sugiere una diferente estrategia reproductiva para este sexo. Sin embargo, no puede descartarse la existencia de diferencias debido al bajo número de réplicas (n=3), aunque tampoco pudo observarse ninguna tendencia en los datos obtenidos. En *N. pulcher*, las hembras subordinadas están en condiciones fisiológicas de reproducirse, pero estarían comportamentalmente inhibidas de hacerlo (Heg, 2008).

En cuanto al contenido hipofisario de SL y su relación con los índices de dominancia no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los sexos estudiados (machos: $r=0.46$, $p=0.08$; hembras: $r=-0.65$ $p=0.06$). Sin embargo la falta de diferencias significativas puede ser el resultado de una baja potencia estadística debida al número acotado de réplicas ($n=5$ en los machos y $n=3$ en las hembras) más que a una verdadera falta de correlación, ya que las diferencias en la intensidad de color corporal de los individuos de diferente rango en la jerarquía pudieron observarse cualitativamente.

Los machos del cíclido Neotropical *Amatitlania nigrofasciata* (Günther, 1867) prefieren a las hembras grávidas sobre aquellas no grávidas y a la más grande entre dos hembras grávidas (Nuttall y Keenleyside, 1993). En este experimento, al igual que en el anterior, tampoco se encontró una preferencia similar en *C. dimerus*, ya que la hembra que ascendía en la jerarquía a un estatus reproductivo, no era ni la más grande ni la que presentaba el mayor índice gonadosomático o peso gonadal absoluto. El único predictor encontrado acerca de qué hembra no reproductiva ascendía de estatus social a uno reproductivo, fue su posición en la jerarquía social. En consecuencia, los machos no parecerían estar eligiendo a la hembra o, si lo hacen, la elección no parece estar basada en el número de huevos que ésta podría poner sino que estaría vinculada a su rango en la jerarquía. Es decir, los machos podrían estar eligiendo a hembras dominantes dado que éstas podrían ser "mejores" defendiendo a las crías, lo cual podría estar favorecido en las presentes condiciones experimentales con una alta densidad de animales y, en consecuencia alta presión de depredación sobre las crías por parte de los otros individuos presentes en el acuario. De ser correcta esta hipótesis, si se percibiese un decremento en la presión de depredación por parte de los machos, la elección podría cambiar de una que priorice la defensa de las crías (elegir una hembra más agresiva) a una que priorice el tamaño de la puesta (hembras con gónadas más grandes que puedan poner más huevos). Por otra parte, en estos experimentos las hembras nunca pudieron elegir una pareja, ya que siempre hubo un solo macho con un territorio reproductivo en los acuarios. Las hembras de mayor rango podrían también estar impidiendo que otras hembras de menor rango formen pareja con el macho reproductivo, al atacar a las mismas y evitar que estas puedan interactuar adecuadamente con el macho.

En *A. burtoni*, la disrupción del hábitat de una colonia causó que los machos cambiaran de estatus social más frecuentemente que los animales mantenidos en ambientes estables (Hoffman *et al.*, 1999). Basándose en estos resultados, es probable que en las poblaciones naturales de *C. dimerus*, los machos establezcan una jerarquía social determinada por el tamaño de los individuos y en función del número de territorios disponibles, esta jerarquía determinaría, a su vez, la prioridad de acceso de los individuos a los diferentes territorios. Las hembras también establecerían una jerarquía social, que les daría prioridad para elegir a los machos con territorios reproductivos, aunque es probable que los machos también muestren selectividad para aceptar cierto tipo de hembras en su territorio. Aquellos machos que no consiguen un territorio reproductivo, o un macho con territorio, en el caso de las hembras, quedarán excluidos de la posibilidad de reproducirse. Pero si se generara una oportunidad de

ascenso en el estatus social, ya sea por depredación o muerte de uno de los individuos reproductivos, o por modificaciones del hábitat, los individuos no-reproductivos de mayor jerarquía ascenderían de estatus social y podrían reproducirse. En este escenario, la coloración conspicua, brillante y colorida, de los machos reproductivos podría tener un valor adaptativo positivo relacionado tanto a la atracción de las hembras como a la defensa del territorios frente a otros individuos, resultando en una característica probablemente seleccionada intra e intersexualmente, e incluso por presiones selectivas interespecíficas.

Aunque no puede descartarse completamente un efecto de haber retirado al macho reproductivo y luego reintroducirlo sobre las variables fisiológicas medidas posteriormente, este efecto fue minimizado y controlado por el diseño experimental ya que el comportamiento general de los peces fue observado y se realizó una matriz de dominancia antes y después de retirar y reintroducir al individuo reproductivo del acuario. Es importante remarcar que no se observaron diferencias comportamentales o en las jerarquías entre las etapas analizadas, es decir, antes de retirar al individuo reproductivo y luego de 2 semanas de haber reintroducido al mismo, momento en el que se registraron las variables fisiológicas y se sacrificó a los animales. A su vez, el individuo reproductivo nunca estuvo más de un día aislado de los individuos no reproductivos, ya que el individuo no-reproductivo rápidamente ascendió de estatus social y luego fue reemplazado por el individuo reproductivo "original" que había sido retirado previamente del acuario. Esto sucedió en un muy breve período de tiempo (menor a un día) durante el cual el pez que ascendió de estatus social fue completamente dominante antes de volver a su contexto social "original". Luego de reintroducir al individuo reproductivo original con el resto de los peces en un nuevo acuario, se permitió a los peces restablecer las jerarquías sociales y los mismos permanecieron en ese contexto social por dos semanas más, antes de sacrificarlos y tomar las muestras para las mediciones fisiológicas. Se considera que este diseño minimiza el posible efecto de retirar al pez reproductivo del sexo correspondiente, lo que fue confirmado por las observaciones comportamentales que no difirieron entre las etapas correspondientes.

En este experimento se demostró que los individuos no reproductivos de *C. dimerus* exhiben una jerarquía social que determina que individuo asciende de estatus social ante una oportunidad de este tipo. En los machos, esto estuvo relacionado al tamaño y peso de los individuos y con cambios fisiológicos en el eje hipófiso-gonadal (FSH y IGS) sugiriendo que los machos realizan ajustes fisiológicos previos a una oportunidad de ascenso en el estatus social, relacionados a la probabilidad de ascenso en el estatus social como resultado de una jerarquía de dominancia, lo cual no fue observado en las hembras.

En resumen, la jerarquía social está directamente relacionada con la probabilidad de ascenso social y está también positivamente correlacionada con el tamaño de los individuos en el caso de los machos, no así en las hembras. A su vez, ésta estuvo correlacionada negativamente con los niveles de cortisol en plasma para ambos sexos, aunque no se detectó una correlación entre la dominancia y los niveles de andrógenos en plasma. Los presentes resultados indican

que no parecería haber una inhibición reproductiva en las hembras no reproductivas a nivel fisiológico y que todas las hembras estarían listas para la reproducción, lo cual es así al menos para todas las variables estudiadas. Por el contrario, la jerarquía social de los machos no reproductivos presentó una correlación positiva con el contenido hipofisario de la hormona foliculo estimulante (FSH), y los índices gonadosomáticos. Esto sugiere un mecanismo adaptativo de los machos no reproductivos, ajustando la inversión reproductiva en relación con su probabilidad de ascenso en el estatus social, traduciendo la percepción de su posición en la jerarquía social en una señal fisiológica a través de los niveles plasmáticos de cortisol, los cuales regulan la inversión en los testículos a través de la inhibición hipofisaria de FSH, lo que representa una respuesta anticipatoria a la oportunidad de ascenso en el estatus social.

Conclusiones Finales:

Respecto a las hipótesis y objetivos planteados en la presente tesis se puede concluir que:

1. Los machos no reproductivos presentan menor contenido hipofisario de β -FSH y SL y una coloración más opaca y, tanto en machos como hembras, los individuos no reproductivos presentan mayores niveles de cortisol, aunque esto no se vio reflejado en un menor IGS en los machos.
2. Los individuos de mayor rango en la jerarquía social son los que ascienden de estatus social y forman una pareja reproductiva cuando se presenta una oportunidad de ascenso social.
3. El rango en la jerarquía social de los machos está determinado por su tamaño y peso corporal relativos, no así en las hembras.
4. La dominancia de los machos no-reproductivos está correlacionada con el contenido hipofisario de β -FSH y sus índices gonadosomáticos, aunque no se encontró una correlación con el contenido de SL y β -LH, ni con las concentraciones plasmáticas andrógenos. Ninguna de estas variables estuvo correlacionada con la dominancia en las hembras.
5. Para ambos sexos se encontró una correlación positiva entre el contenido hipofisario de cortisol y los índices de dominancia de los individuos.
6. Estas conclusiones apoyan la hipótesis de que los machos presentan diferencias fisiológicas previas al ascenso en el estatus social, relacionadas con la probabilidad del mismo a través de su rango en la jerarquía social, lo cual no fue constatado en las hembras.

5. BIBLIOGRAFÍA CITADA

ABBOTT DH, KEVERNE EB, BERCOVITCH FB, SHIVELY CA, MENDOZA SP. (2003). Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Hormones and Behaviour*, 43: 67-82.

ABBOTT DH, SALTZMAN W, SCHULTZ-DARKEN NJ, TANNENBAUM PL. (1998). Adaptations to subordinate status in female marmoset monkeys. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 119: 261-274.

ANDERSON, M. (1994). *Sexual selection*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

ANTUNES RA, OLIVEIRA RF. (2009). Hormonal anticipation of territorial challenges in cichlid fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 106: 15985-15989.

BARRETT J, ABBOTT DH, GEORGE L M. (1990). Extension of reproductive suppression by pheromonal cues in subordinate female marmoset monkeys, *Callithrix jacchus*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 90: 411-418.

BEECHING SC, GROSS SH, BRETZ H, HARIATIS E. (1998). Sexual dichromatism in convict cichlids: the ethological significance of female ventral coloration. *Animal Behaviour*, 56: 1021-1026.

BLASCO M, CARRIQUIRIBORDE P, MARINO D, RONCO AE, SOMOZA GM. (2009). A quantitative HPLC-MS method for the simultaneous determination of testosterone, 11-ketotestosterone and 11- β hydroxyandrostenedione in fish serum. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences*. 877:1509-1515.

BURMEISTER SS, JARVIS ED, FERNALD RD. (2005). Rapid Behavioral and Genomic Responses to Social opportunity. *Plos Biology*. 3:e363.

CÁNEPA MM, PANDOLFI M, MAGGESE MC, VISSIO PG. (2006). Involvement of Somatolactin in background adaptation of the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Journal of Experimental Zoology*, 305: 410-419.

CASCIOTTA JR, ALMIRÓN AE, BECHARA J. (2005). *Peces del Iberá- Hábitat y Diversidad*. Grafikar, La Plata, Argentina; UNDP, Fundación Ecos, UNLP y UNNE, 244p.

DESJARDINS JK, STIVER KA, FITZPATRICK JL, MILLIGAN N, VAN DER KRAAK GJ, BALSHINE S. (2008). Sex and status in a cooperative breeding fish: behavior and androgens. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 68: 785-794.

DEWSBURY DA. (1982). Dominance Rank, Copulatory Behavior, and Differential Reproduction. *The Quarterly Review of Biology*. 57:135-159.

EARLEY RL, EDWARDS JT, ASEEM O, FELTON K, BLUMER LS, KAROM M, GROBER MS. (2006). Social interactions tune aggression and stress responsiveness in a territorial cichlid fish (*Archocentrus nigrofasciatus*). *Physiology and Behavior*. 2006; 88:353-63.

FARIAS IP, ORTÍ G, MEYER A. (2000). Total evidence: molecules, morphology, and the phylogenetics of cichlid fishes. *Journal of Experimental Zoology*. 288:76-92.

FAULKES CG, BENNETT NC. (2001). Family values: Group dynamics and social control of reproduction in African molerats. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 184-190.

FERNALD RD. (2002). Social regulation of the brain: sex, size and status. *Novartis Foundation Symposium*, 244: 169-84; discussion 184-6, 203-6, and 253-7.

FISZBEIN A, CÁNEPA M, REY VAZQUEZ G, MAGGESE MC, PANDOLFI M. (2010). Photoperiodic modulation of reproductive physiology and behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Physiology and Behavior*, 99: 425-432.

FITZPATRICK JL, DESJARDINS JK, STIVER KA, MONTGOMERIE R, BALSHINE S. (2006). Male reproductive suppression in the cooperatively breeding fish *Neolamprologus pulcher*. *Behavioral Ecology*, 17, 25-33.

FOX HE, WHITE SA, KAO MHF, FERNALD RD. (1997). Stress and dominance in a social fish. *Journal of Neurosciences*, 17: 6463-6469.

FRALEY NB, FERNALD RD. (1982). Social control of developmental rate in the African cichlid fish, *Haplochromis burtoni*. *Journal of Comparative Ethology*, 60: 66-82.

FULLER RC. (2002). Lighting environment predicts the relative abundance of male colour morphs in bluefin killifish (*Lucania goodei*) populations. *Proceedings of the Royal Society B*. 269: 1457-1465.

GAGLIARDI-SEELEY J, LEESE J, SANTANGELO N, ITZKOWITZ M. (2009). Mate choice in female convict cichlids (*Amatitlania nigrofasciata*) and the relationship between male size and dominance. *Journal of Ethology*, 27: 249-254.

GROSENICK L, CLEMENT TS, FERNALD RD. (2007). Fish can infer social rank by observation alone. *Nature*. 445:429-432.

HEG D. (2008). Reproductive suppression in female cooperatively breeding cichlids. *Biological Letters*. 4:606-609.

HOFMANN HA, BENSON ME, FERNALD RD. (1999). Social status regulates growth rate: Consequences for life-history strategies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 14171-14176.

HOFMANN HA, FERNALD RD. (2000) Social status controls somatostatin neuron size and growth. *The Journal of Neuroscience*. 20: 4740-4.

KEENLEYSIDE MHA. (1991). *Cichlid Fishes—behavior, ecology, and evolution*. London: Chapman and Hall.

KOZOROVITSKIY Y, GOULD E. (2004). Dominance hierarchy influences adult neurogenesis in the dentate gyrus. *The Journal of Neuroscience*, 24: 6755-6759.

KUSTAN JM, MARUSKA KP, FERNALD RD. (2011). Subordinate male cichlids retain reproductive competence during social suppression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. rspb.2011.0997v1-rspb20110997. doi: 10.1098/rspb.2011.0997

LENHER PN . (1996). *Handbook of ethological methods*. 2^o Ed. Cambridge University Press.

MARUSKA KP, FERNALD RD. (2010). Behavioral and physiological plasticity: Rapid changes during social ascent in an African cichlid fish. *Horm Behav*. 58:230-240

MARUSKA KP, LEVAVI-SIVAN B, BIRAN J, FERNALD RD. (2011). Plasticity of the Reproductive Axis Caused by Social Status Change in an African Cichlid Fish: I. Pituitary Gonadotropins. *Endocrinology*. 152:281-290

MARUSKA KP, FERNALD RD. (2011). Plasticity of the Reproductive Axis Caused by Social Status Change in an African Cichlid Fish: II. Testicular gene expression and spermatogenesis. *Endocrinology*. 152:291-302

MCGHEE KE, TRAVIS J. (2010). Repeatable behavioural type and stable dominance rank in the bluefin killifish. *Animal Behavior*. 79:497-507.

- MEIJIDE FJ, GA GUERRERO. (2000). Embryonic and larval development of a substrate-brooding cichlid *Cichlasoma dimerus* (Heckel, 1840) under laboratory conditions. *Journal of Zoology*, 252: 481-493.
- NOONAN KC. (1983). Female mate choice in the cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Animal Behaviour*, 31: 1005-1010.
- NUTTAL DB, KEENLEYSIDE MHA. (1993). Mate choice by the male convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*; Pisces, Cichlidae). *Ethology*, 95: 247-256.
- OAKLEY AE, BREEN KM, CLARKE IJ, KARSCH FJ, WAGENMAKER ER, TILBROOK AJ. (2009). Cortisol reduces gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in follicular phase ewes: influence of ovarian steroids. *Endocrinology* 150: 341–349.
- OGAWA S, AKIYAMA G, KATO S, SOGA T, SAKUMA Y, PARHAR IS. (2006). Immunoneutralization of gonadotropin-releasing hormone type-III suppresses male reproductive behavior of cichlids. *Neuroscience Letters*, 403: 201-5.
- OLIVEIRA RF, SILVA A, CANÁRIO AVM. (2009). Why do winners keep winning? Androgen mediation of winner but not loser effects in cichlid fish. *Proc R Soc B*. 276:2249-2256.
- PANDOLFI M, PAZ DA, MAGGESE MC, RAVAGLIA MA, PG VISSIO. (2001). Ontogeny of immunoreactive somatolactin, prolactin and growth hormone secretory cells in the developing pituitary gland of *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Cichlidae). *Anat Embryol (Berl)*.; 203:461-468.
- PANDOLFI M, LO NOSTRO FL, SHIMIZU A, POZZI AG, MEIJIDE FJ, REY VAZQUEZ G, MAGGESE MC. (2006). Identification of immunoreactive FSH and LH cells in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus* during the ontogeny and sexual differentiation. *Anatomy and Embryology*, 211: 355-365.
- PANDOLFI M, CÁNEPA MM, MEIJIDE FJ, ALONSO F, REY VÁZQUEZ C, MAGGESE MC, VISSIO PG. (2009). Studies on the reproductive and developmental biology of *Cichlasoma dimerus* (Perciformes, Cichlidae). *Biocell*, 33(1): 1-18.
- QUINTANA CF. (2002). Respuestas neuroendocrinas al estrés en peces teleósteos. *Rev Ictiol*. 10:57-78.
- RIEBLI T, AVGAN B, BOTTINI AM, DUC C, TABORSKY M, HEG D. (2011). Behavioral type affects dominance and growth in staged encounters of cooperatively breeding cichlids. *Animal Behavior*. 81:313-323.
- TAVES MD, DESJARDINS JK, MISHRA S, BALSHINE S. (2009). Androgens and dominance: Sex-specific patterns in a highly social fish (*Neolamprologus pulcher*). *General and Comparative Endocrinology*. 161: 202-207
- TURNER GF. (2007). Adaptive radiation of cichlid fish. *Current Biology*. 17:827-831.
- WHITE SA, FERNALD RD. (1997). Changing through doing: Behavioral influences on the brain. *Progress in Hormone Research*. 52, 455-474.
- WINGFIELD JC, HEGNER RE, DUFTY AM, BALL GF. (1990). The "Challenge Hypothesis": Theoretical Implications for Patterns of Testosterone Secretion, Mating Systems, and Breeding Strategies. *The American Naturalist*. 136:829-846.

***"He hecho esta carta más larga de
lo usual porque no tengo tiempo
para hacerla más corta..."
Blaise Pascal***

6. ANEXO

6.1. Definiciones de algunos términos utilizados en este trabajo:

Jerarquía social: Orden de dominancia de los individuos de un grupo social. Ejemplo: Si el individuo A domina a B y a C, y B domina a C entonces la jerarquía social de dominancia sería: A>B>C. Es decir que este concepto hace referencia a un conjunto de individuos.

Rango: Es el lugar que ocupa un individuo dentro de la Jerarquía. Ejemplo: en la jerarquía anterior, A tiene mayor rango que B y C, mientras que C tienen el menor rango en la jerarquía. Es decir que este concepto hace referencia a un individuo particular y es relativo a su contexto social.

Individuo subordinado: Individuo de menor rango social que otro. Es un término relativo al rango de otro individuo. Por ejemplo, en la jerarquía propuesta anteriormente, B y C son individuos subordinados a A.

Estatus social: Se relaciona al estado reproductivo y de territorialidad de un individuo que, entre otras cosas es determinado por su rango en la jerarquía (ver Resultados). Así, dos individuos de diferente rango pueden tener el mismo estatus social. Por ejemplo para los individuos dados en el ejemplo en la definición de jerarquía social, los individuos B y C, de diferente rango podrían ser del mismo estatus social (ej.: no reproductivos-no territoriales) y el individuo A de otro estatus social (ej: reproductivo-territorial).

6.2. El hipotálamo y la hipófisis en los peces teleósteos.

La hipófisis es una de las glándulas endocrinas más complejas de los vertebrados. Regula la actividad secretoria de otras glándulas endocrinas así como también produce, por sí misma, hormonas que actúan directamente sobre los órganos efectores. Además es el principal vínculo entre el sistema nervioso y el endócrino. La estructura básica del sistema hipotálamo-hipófisis puede ser clasificada en tres áreas principales: el hipotálamo, que deriva del diencefalo; la neurohipófisis, que deriva del diencefalo ventral y actúa como órgano neurohemal; y la adenohipófisis, que es la porción endocrina de la glándula. La neurohipófisis está compuesta por las terminales nerviosas de las neuronas secretoras cuyos somas se encuentran principalmente en el área preóptica y en el hipotálamo.

En los peces teleósteos no hay ni eminencia media ni sistema porta (una red de capilares sanguíneos en el cual las neuronas hipotalámicas liberan sus productos de secreción en el sistema circulatorio y a través del cual alcanzan a la adenohipófisis). Como sinapomorfía de

este grupo se observa que la neurohipófisis se interdigita con la adenohipófisis, lo cual indica una innervación directa de las células endocrinas por parte de las fibras neurosecretoras provenientes del área preóptica e hipotálamo. En la Figura 17 puede verse un esquema generalizado de la hipófisis de un pez teleosteo (Bernier *et al.*, 2009).

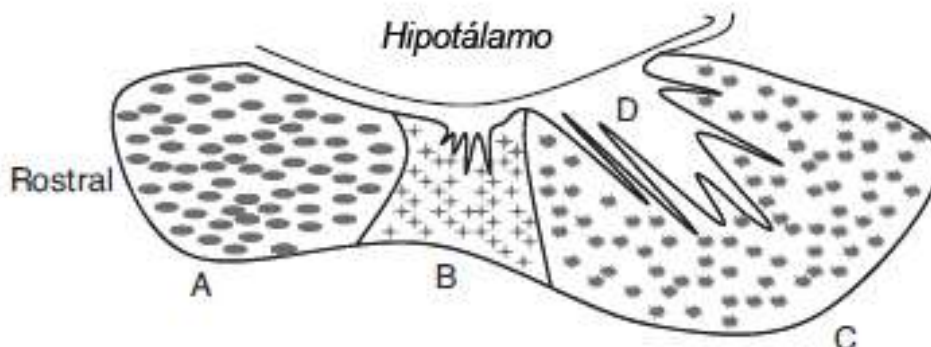


Figura 17. Esquema representando la estructura de la hipófisis de un pez teleosteo. A, *pars distalis* rostral; B *pars distalis* proximal; C, *pars intermedia*. Las regiones A, B y C son parte de la adenohipófisis. D, *pars nervosa* de la neurohipófisis (Modificado de Bernier *et al.*, 2009).

6.3. Gonadotrofinas en peces teleosteos

La reproducción en los peces es controlada por la acción de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Éstas son glicoproteínas heterodiméricas compuestas por una subunidad común α , y una subunidad hormona específica β . LH ha sido caracterizada en un buen número de especies de peces teleosteos. LH y FSH son producidas en células diferentes en la hipófisis y muestran diferentes patrones de expresión en las diferentes etapas del ciclo reproductivo y se ha demostrado que actúan sobre las gónadas produciendo esteroides sexuales y otros factores gonadales que juegan un factor importante en el desarrollo y la maduración de las gametas y las gónadas.

La principal diferencia de FSH y LH de peces con las de mamíferos es que en peces se solapan más sus funciones debido a que hay receptores más promiscuos que reconocen a ambas hormonas.

Basado principalmente en el conocimiento de sus acciones en salmónidos, FSH está implicada en el control de la gametogénesis ya que estimula la producción de 17β -estradiol y la incorporación de vitelogenina en el oocito en desarrollo. En machos, FSH estimula la proliferación de las células de Sertoli y el mantenimiento de una espermatogénesis cuantitativamente normal. Los niveles de LH suelen ser muy bajos o indetectables durante las etapas tempranas del desarrollo reproductivo pero suben luego de la maduración

donde se sabe que estimula la esteroidogénesis gonadal y que está involucrada en la maduración de los oocitos, ovulación y espermiación. A su vez, estas hormonas son inducidas por la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) producida por neuronas cuyos somas están presentes en a lo largo de toda la región ventral del cerebro anterior y proyectan sus axones hacia la neurohipófisis, estimulando la síntesis y secreción de LH y FSH en la adenohipófisis. A su vez estas hormonas presentan una retroalimentación negativa por los esteroides sexuales cuya síntesis estimulan (Bernier *et al.*, 2009).

6.4. Esteroides sexuales en peces

Las hormonas esteroideas gonadales son ampliamente conocidas por sus funciones claves en la regulación de la reproducción, pero también contribuyen a la regulación del balance energético (Gomez, 2007; Lovejoy y Sainsbury, 2009; O'Sullivan, 2009). Originalmente, tanto mecanismos de retroalimentación positiva como negativa fueron descritos a través de experimentos de castración y administración hormonal (Donaldson y McBride, 1967; Olivereau y Olivereau, 1979; Crim y Evans, 1983; Trudeau, 1997). Estos efectos positivos y negativos de los esteroides sexuales eran frecuentemente contradictorios y dependían del esteroide considerado, la especie y el estatus fisiológico, el órgano blanco (cerebro o hipófisis) y los parámetros estudiados.

La visión clásica respecto al efecto de los esteroides en el sistema hipotálamo-hipófisis es que los mismos son producidos por glándulas periféricas, (principalmente en las gónadas aunque no únicamente en éstas), en respuesta a la estimulación por las gonadotrofinas (FSH, LH). Como contrapartida, estos esteroides luego generan una retroalimentación sobre los sistemas neuroendocrinos controlando la secreción de estas hormonas tróficas ajustando su actividad a la situación fisiológica. Sin embargo, un concepto emergente es que el cerebro por sí mismo es un órgano esteroidogénico que expresa varias enzimas esteroidogénicas y, en consecuencia, produce un número de esteroides cuya función está pobremente conocida (Bernier *et al.*, 2009).

6.5. Cortisol en peces

Los corticosteroides son hormonas esteroideas producidas en la corteza adrenal de los tetrápodos y en las glándulas interrenales en los peces. Los corticosteroides están involucrados en la regulación de muchos sistemas fisiológicos como la respuesta al estrés, la respuesta inmune, el metabolismo de hidratos de carbono, los niveles de electrolitos en sangre y el comportamiento. Los glucocorticoides han sido nombrados así por su relación con la inducción de la movilización de la glucosa como una respuesta que reestablece la homeostasis sobre el estrés, pero el cortisol también tiene importantes funciones regulatorias sobre el metabolismo, desarrollo y la función inmunológica. Mientras que es claro que el cortisol es el

glucocorticoide más abundante en peces, ha habido un largo debate en relación a la exacta naturaleza de los corticosteroides secretados por la interrenal (Bernier *et al.*, 2009).

En *A. burtoni* fue claramente demostrado que los machos nT tenían mayores niveles plasmáticos de cortisol que los T, pero esto también era dependiente de las condiciones de las comunidades y el periodo de tiempo bajo estas condiciones (Fox *et al.*, 1997; White y Fernald, 1997).

6.6. Somatolactina

La somatolactina (SL) junto con Prolactina (PRL) y la hormona de crecimiento (GH) forman una familia de hormonas hipofisarias que pertenecen a la superfamilia de las citoquininas de tipo I helicoidales y se piensa que estas hormonas y sus respectivos receptores habrían coevolucionado por duplicación génica y posterior divergencia. SL es producida en la *pars intermedia* de los Osteichthyes *sensu lato* (Actinopterygii y Sarcopterygii). Se ha hipotetizado que este gen habría surgido en el grupo de los Gnathostomata y se habría perdido en la rama de los tetrápodos.

Las funciones fisiológicas de SL han sido propuestas por observaciones morfológicas de las células de SL por inmunohistoquímica, midiendo los cambios en plasma e hipófisis de los niveles de SL por radioinmunoensayo, y los niveles de expresión de ARNm de SL bajo diferentes condiciones ambientales y fisiológicas. Se ha sugerido que SL estaría involucrada en la adaptación a variaciones ambientales, esmoltificación, adaptación al fondo y a la disminución en la iluminación, respuestas a estrés, control de algunos aspectos reproductivos, balance ácido base y la regulación del metabolismo de calcio y fosfato. Implícitamente, también se ha relacionado a SL con el crecimiento y el metabolismo energético. Sin embargo existen numerosos conflictos en relación a estas funciones propuestas (Bernier *et al.*, 2009).

Los mecanismos regulatorios de la liberación de SL desde la hipófisis permanecen aún poco conocidos. Hay evidencias relacionadas a observaciones histológicas que apoyan un posible control por diversos factores hipotalámicos. Por ejemplo, las células inmunoreactivas a GnRH fueron identificadas en contacto próximo a las células de SL en la *pars intermedia* y habría evidencia que apoya que MCH también regularía positivamente la liberación de SL. Por otra parte existiría una inhibición de la misma por parte de dopamina. (Bernier *et al.*, 2009).

6.7. Bibliografía Citada en el Anexo

BERNIER NJ, VAN DER KRAAK G, FARRELL AP, BRAUNER CJ. (2009). Fish neuroendocrinology. Academic Press, Elsevier. London, UK.

CRIM LW, EVANS DM. (1983). Influence of testosterone and/or luteinizing hormone releasing hormone analogue on precocious sexual development in the juvenile rainbow trout. Biol. Reprod. 29, 137–142.

DONALDSON EM, McBRIDE JR. (1967). The effects of hypophysectomy in the rainbow trout *Salmo gairdnerii* (Rich.) with special reference to the pituitary-interrenal axis. Gen. Comp. Endocrinol. 9, 93–101.

GOMEZ JM. (2007). Serum leptin, insulin-like growth factor-I components and sex-hormone binding globulin. Relationship with sex, age and body composition in healthy population. Protein Pept. Lett. 14, 708–711.

FOX HE, WHITE SA, KAO MHF, FERNALD RD. (1997). Stress and dominance in a social fish. Journal of Neurosciences, 17: 6463-6469.

LOVEJOY JC, SAINSBURY A. (2009). Sex differences in obesity and the regulation of energy homeostasis. Obes. Rev. 10, 154–167.

O’SULLIVAN AJ. (2009). Does oestrogen allow women to store fat more efficiently? A biological advantage for fertility and gestation. Obes. Rev. 10, 168–177.

TRUDEAU VL. (1997). Neuroendocrine regulation of gonadotrophin II release and gonadal growth in the goldfish, *Carassius auratus*. Rev. Reprod. 2, 55–68.

WHITE SA, FERNALD RD. (1997). Changing through doing: Behavioral influences on the brain. Progress in Hormone Research. 52, 455-474.

**"La vida no es la que uno vivió, sino la que uno recuerda,
y cómo la recuerda para contarla"
Gabriel García Márquez (Vivir para contarla: 2002)**