

Universidad Nacional de Córdoba.
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
Carrera de Ciencias Biológicas.

Efecto de la experiencia social previa de hembras de codorniz japonesa sobre la preferencia por machos que previamente observaron interactuar. Un nuevo enfoque experimental.

Tesinista: CONDAT, Leon

Firma:

Director: Dr. GUZMAN, Diego A.

Firma:

Codirector: Biol. PELLEGRINI, Stefanía

Firma:

Laboratorio de Ciencia Avícola – Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
(ICTA)

Unidad Ejecutora CONICET- UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas (IIBYT)

Efecto de la experiencia social previa de hembras de codorniz japonesa sobre la preferencia por machos que previamente observaron interactuar. Un nuevo enfoque experimental.

Tribunal Examinador

Nombre y Apellido:

Firma:

Nombre y Apellido:

Firma:

Nombre y Apellido:

Firma:

Calificación:

Fecha:

INDICE

<u>SECCIÓN</u>	<u>PÁGINA</u>
AGRADECIMIENTOS	4
INTRODUCCIÓN	5
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXO I	42

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional de Córdoba y a la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales el permitirme llevar a cabo mi carrera.

Tanto al Instituto de Investigaciones Biológicas y Tecnológicas como al Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos les agradezco el haberme permitido desarrollar mi tesina de grado.

Les agradezco a mi director Diego Guzman y co-director Stefanía Pellegrini todo el tiempo y orientación que invirtieron en este proceso, así como la ayuda que me dedicaron cada vez que la necesité.

Estoy inmensamente agradecido con mi familia, por ser el vínculo incondicional que sostiene todo los demás.

Agradecido con mis personajes queridos de todo tipo, sexo y religión, que me enseñaron capaz que más que la carrera en sí.

Con el grupo del laboratorio de ciencia avícola por su colaboración a la que siempre estuvieron dispuestos.

Con todos por haber hecho aquello con lo que yo hice quien soy.

INTRODUCCIÓN

Ambientes de cría con altos índices de amenazas y agresiones (agonismo) están generalmente asociados a condiciones de bajo bienestar de los animales, ya que las interacciones agonistas entre las aves son una fuente de estrés social y en muchas situaciones conducen a daños corporales que en casos extremos pueden ser causales de muerte (Mench 1988, Gerken y Mills 1993). Las consecuencias negativas de una prolongada tensión social y expresión de miedo afectan la fisiología de las aves (por ej. depresión del sistema inmune, menor crecimiento, desmejoramiento de la condición ósea, mayor asimetría bilateral) (Gross y Siegel 1983, Satterlee y Roberts 1990, Satterlee, Cadd et al. 2000) y su comportamiento (por ej. reacciones de pánico, agonismo, reducción de cópulas y reproducción) (Jones 1996, Jones y Hocking 1999, Estevez, Keeling et al. 2003, Newberry 2003, Rodenburg y Koene 2007).

Dentro de este contexto, las interacciones agonistas entre conespecíficos son consideradas uno de los problemas más serios que enfrenta la industria avícola en la actualidad. Sin embargo, en la naturaleza forman parte de la vida diaria de los animales y son un componente importante para el mantenimiento de la estructura del grupo social (Ej. establecimiento de rangos sociales o defensa de los recursos). Bajo condiciones de cría intensiva, la falta de espacio y la imposibilidad de las aves de retirarse, de abandonar el grupo donde se encuentran o de no poder seleccionar su pareja reproductiva son algunas de las razones que inducen un claro desacople entre el potencial para realizar comportamiento y el ambiente donde están restringidas. Esta falta de adaptación tiene consecuencias negativas en la producción, es a su vez una razón válida en el reclamo de las sociedades protectoras de animales y a nivel mundial un cuestionamiento creciente de los consumidores de productos avícolas hacia la industria (Swanson 1995, Blokhuis, Ekkel et al. 2000).

Por lo expuesto anteriormente, consideramos prioritario el desarrollo de nuevas estrategias para la prevención o disminución de los efectos deletéreos de las interacciones agonistas, por lo que resulta imprescindible avanzar sobre el conocimiento de los orígenes y la dinámica de estos comportamientos.

En la codorniz japonesa, especie que será el sujeto de estudio en el presente trabajo, el comportamiento de cópula está bien documentado en condiciones experimentales. El macho sigue una secuencia típica de comportamientos: atrape de las plumas del cuello/cabeza de la hembra (*grab* en idioma Inglés), monta, movimiento para propiciar el contacto cloacal (el macho una vez montado sobre la hembra curva su

espalda y acerca su cloaca a la cloaca de la hembra), y por último se alcanza el contacto cloacal que permite la inseminación (Noble 1973). Los machos usualmente también caminan más erguidos y se “pavonean” (*strut*) luego de una inseminación exitosa (contacto cloacal efectivo) (Adkins-Regan 1995). El rol de las hembras durante las interacciones sexuales es más sutil pero no por ello menos importante, en respuesta al atrape del macho, la hembra puede flexionar sus patas acercándose al piso y permanecer quieta con su lomo horizontal para favorecer la copula (*squat*), o permanecer erguida y ambulando lo que por ende dificulta la estabilidad del macho que intenta montarse sobre ella e impide los contacto cloacales efectivos (Adkins-Regan 1999). Tanto el cortejo como la cópula en esta especie parece ser (para un observador humano) coercitivo (Adkins-Regan 1995) y potencialmente dañino para la integridad física de la hembra (Persaud y Galef Jr 2004).

Las hembras en general invierten más recursos en sus crías que los machos, por lo que deberían ser más selectivas que los machos cuando tienen la posibilidad de copular con una pareja potencial (Trivers 1972, Cunningham y Birkhead 1998). Sin embargo en algunas especies, la elección de las hembras puede ser alterada mediante copulas forzadas por parte de los machos. Estas formas de coerción sexual son una estrategia de apareamiento común en gallos (Pizzari, Froman et al. 2002) y codornices japonesas (Adkins-Regan 1995, Persaud y Galef Jr 2003) y son una fuente importante de lesiones en condiciones de cría comercial en ambas especies (Wechsler y Schmid 1998, Millman, Duncan et al. 2000).

En este contexto, resultan muy interesantes los experimentos realizados por el grupo de Galef (Ophir y Galef Jr 2003, Ophir y Galef Jr 2004, Ophir, Persaud et al. 2005, Persaud y Galef Jr 2005, Persaud y Galef Jr 2005) donde entre otros descubrimientos informan que los huevos de codorniz tienen mayores probabilidades de ser fértiles si la hembra copula con un macho al que ella prefiere (Persaud y Galef Jr 2005) con respecto a si es copulada por un macho que la forzó a ello (Persaud y Galef Jr 2005). También se ha observado que las hembras con experiencia sexual previa y que han observado una interacción agonista entre pares de machos prefieren al macho "perdedor" o al que fue menos agresivo durante dicho encuentro (Ophir y Galef Jr 2003, Ophir, Persaud et al. 2005), mientras que las hembras sin experiencia sexual previa y que han observado una pelea entre pares de machos prefieren al macho

"ganador" o al que fue relativamente más agresivo durante dicha interacción (Ophir y Galef Jr 2004).

El cuerpo temático presentado, a pesar de haber sido explorado con bastante detalle en los trabajos de Ophir y Persaud, a nuestro entender deja aun importantes líneas de investigación que merecen ser consideradas. La primer línea de investigación o interrogante surge de profundizar sobre las implicancias teóricas de los descubrimientos presentados por dichos autores y considerando la escasa información que se dispone sobre el comportamiento de estas aves en el ambiente natural del ancestro salvaje de la codorniz japonesa. Se ha informado que los machos son territoriales y que en semi-cautiverio son los machos dominantes los que tienden a defender las áreas de cortejo preferidas (que son las áreas de mayor concentración de recursos), por lo que la tendencia observada por parte de las hembras de evitar o no preferir a los machos más agresivos, y presumiblemente dominantes es al menos controversial. Las hembras en general se esperaría obtengan beneficios directos e indirectos al reproducirse con machos relativamente más agresivos, ya que el acceso a la zona con mayores recursos le permitiría aumentar su supervivencia y la de su descendencia, además si consideramos que existen evidencias de cierto grado de heredabilidad del estatus de dominancia de los machos a su progenie (Boag y Alway 1981), las hembras podrían obtener un beneficio indirecto ya que los hijos de machos relativamente agresivos podrían heredar la tendencia de sus padres a ser dominantes y en consecuencia aumentar su acceso a los recursos. Galef y colaboradores (2003, 2005) sostienen que este comportamiento de las hembras sería para evitar los potenciales daños que los machos relativamente más agresivos podrían producirle durante la cópula, sin embargo existe cierta nueva evidencia que no soportaría dicha hipótesis. En un estudio realizado por Rutkowska y col. (2011) los niveles de corticosterona plasmática de las hembras de codorniz japonesa luego de interactuar con machos se elevaron con respecto a los basales, el aumento fue el mismo que se observó al hacer interactuar bajo las mismas condiciones experimentales a las hembras con otras hembras. En otro trabajo realizado por Correa y col. (2011) trabajando con hembras de codorniz japonesa sin experiencia sexual previa no observaron diferencias en los niveles de corticosterona plasmática de las hembras luego de interactuar con machos que mostraron diferentes niveles de agresión durante el cortejo y la cópula (sólo se los

permitió copular 1 vez). Por lo que no habría quedado demostrado que el proceso de cópula *per se* sea una experiencia especialmente estresante para las hembras aun si los machos se comportan de forma más o menos agresiva ó coercitiva. Queda abierto el interrogante ¿Por qué entonces esta experiencia modularía el comportamiento de las hembras haciéndoles preferir a los machos relativamente menos agresivos? Por otro lado, hay dos procedimientos experimentales a destacar en los experimentos que soportan la hipótesis propuesta por Galef y su grupo (2003, 2004, Ophir, Persaud et al. 2005). El primero es que la agresividad relativa de los machos fue determinada de forma indirecta (según método propuesto por Schlinger y col. (1987)) de acuerdo al número de picoteos que los machos daban a una partición de acrílico que separaba los ambientes contiguos donde estaban alojados, y el segundo es que la preferencia de la hembra se midió por "proximidad" a las rejas que la separaban de uno u otro macho, es decir que las importantes conclusiones sobre la dinámica de interacción social a las que llegan con estos experimentos no incluyen en su núcleo experimental ningún contacto físico efectivo entre las aves.

La segunda línea de investigación, podría tener importantes implicancias en la producción avícola moderna, si las hembras tienen la capacidad de identificar y evitar a los machos relativamente más agresivos, un sistema de cría donde las hembras puedan ejercer en forma efectiva sus preferencias por determinadas parejas reproductivas, vería notoriamente incrementada la fertilidad de su producción y el bienestar de sus integrantes. Adicionalmente, si este comportamiento deletéreo de los machos hacia las hembras tuviera base genética (Boag y Alway 1981, Millman, Duncan et al. 2000), tanto por la exclusión por parte del productor de los machos menos preferidos por las hembras, como por la potencial auto-segregación del carácter, de la aplicación de este sistema teórico de cría (donde las hembras pueden ejercer su preferencia) se podrían obtener líneas genéticas de machos menos agresivos para su utilización en sistemas de cría convencionales.

Basándose en los interrogantes planteados en los párrafos anteriores y valiéndonos de un nuevo enfoque experimental (ver párrafo siguiente) para abordar el problema, el objetivo principal del presente trabajo de Tesina fue revisar las hipótesis formuladas por Galef y su grupo relacionadas a la preferencia de hembras hacia machos que resultaron perdedores o ganadores en interacciones agonistas (Ophir y Galef Jr

2003, Ophir y Galef Jr 2004, Ophir, Persaud et al. 2005, Persaud y Galef Jr 2005, Persaud y Galef Jr 2005).

El nuevo enfoque experimental utilizado para abordar los interrogantes planteados en los párrafos anteriores estuvo basado en tres pilares fundamentales:

A) La utilización de una nueva herramienta desarrollada en nuestro laboratorio denominado Barrera Física Individual (BFI) (Pellegrini, Marin et al. 2015). El dispositivo BFI actúa delimitando la zona de ambulación de las aves experimentales (que llevan el BFI) dentro de una caja de cría de mayor área. Este dispositivo consiste en una barra cilíndrica metálica de entre 6 y 10 cm de largo y un espesor de 0,4 a 1 mm (las medidas a utilizar dependen de la edad de las aves) que se coloca en el lomo de las aves mediante dos bandas que se ajustan a la base de las alas. Una vez que el BFI está sujeto en el ave, éste no limita sus movimientos naturales pero le impide atravesar barreras físicas realizadas mediante rejillas. Estas rejillas son fácilmente atravesadas por las aves adultas que no llevan dicho dispositivo instalado. Esto nos permite crear cajas de cría donde la permanencia de individuos con BFI está circunscrita a una determinada zona (delimitada mediante la rejilla), mientras que las aves sin el dispositivo colocado pueden deambular por la totalidad de la caja de cría. El uso del BFI nos permitió evaluar la preferencia real (no solo por proximidad) de las hembras de codorniz hacia diferentes machos. Al colocárseles el BFI a los 2 machos señuelos que se presentaban como alternativa experimental, se les otorgó a las hembras la posibilidad de regular el contacto físico real con ellos de acuerdo a sus preferencias en forma efectiva (contacto social efectivo) durante periodos de 8 horas, tanto en lo que se refiere a su necesidad de contacto social como a su elección de pareja reproductiva.

B) En este trabajo el comportamiento social de las aves fue evaluado durante periodos de tiempo relativamente prolongados (horas/semanas), considerando que si bien las pruebas cortas (≤ 10 minutos) pueden ser de gran utilidad en diversos estudios comportamentales, cuando se desean evaluar variables relacionadas a la sociabilidad de las aves, los resultados de las pruebas cortas pueden estar muy influenciadas por el efecto del miedo inducido por ejemplo como producto de la manipulación de los animales y del ambiente novel donde las aves son evaluadas (Forkman, Boissy et al. 2007).

C) Por último, los experimentos realizados por Galef y su grupo (2003, 2004, 2005) consideran sólo las condiciones de hembras sexualmente experimentadas vs. las

hembras *naive*; pre-asumiendo que independientemente del comportamiento del macho durante el cortejo y la cópula, las hembras experimentan esta experiencia de forma equivalente y su consecuencia es la no preferencia por los machos relativamente más agresivos. Durante más de 10 años de experiencia manteniendo parejas de reproductores en nuestro biotério (con una estadía promedio de las aves de 6 meses), hemos observado que si bien algunas hembras presentan su plumaje deteriorado luego de pasados algunos meses (con estrecha relación potencial al comportamiento del macho), otras hembras conservan su plumaje casi intacto, además en las jaulas que contienen estas hembras en general no se observan comportamientos agonistas entre las parejas de reproductores (D. A. Guzmán, comunicación personal (Guzmán 2016). Considerando estas observaciones es que proponemos incorporar al modelo experimental propuesto por Galef y su grupo (2003, 2004, 2005) una nueva variable: la evaluación de la experiencia previa de las hembras experimentales (durante un periodo mínimo de un mes) con un macho aleatoriamente asignado para ser su pareja reproductiva. A partir de estas observaciones las hembras serán clasificadas según convivieron con machos más o menos agresivos y dicha clasificación puede ser considerada al momento de evaluar su posterior preferencia al ser expuestas a nuevos machos desconocidos y a los que tienen la oportunidad de observar interactuar entre ellos en forma relativamente menos o más agresiva.

Hipótesis

La preferencia de hembras sexualmente experimentadas por machos menos o más agresivos (perdedores o ganadores de una interacción agonista) estará relacionada a la experiencia previa de estas hembras con otros machos. Se espera que las hembras que convivieron con machos no agresivos prefieran a los machos ganadores de una interacción agonista y no a los machos perdedores como lo sugiere la bibliografía generada por el Dr. Galef y su grupo, verificándose sí, la predicción de que hembras con experiencia social negativa con otros machos afectará la preferencia de ellas hacia machos menos agresivos.

Objetivo general

Avanzar en el conocimiento sobre variables de comportamiento social influyentes en las preferencias de hembras para interactuar con potenciales parejas reproductivas.

Objetivos específicos

1. Desarrollar un criterio de clasificación de codornices macho de acuerdo a su nivel de expresión de conductas agresivas hacia la hembra con la que conviven.
2. Determinar mediante un diseño experimental que permite el contacto social efectivo entre las aves, si las hembras de codorniz japonesa manifiestan preferencias por machos de acuerdo a su desempeño mostrado cuando interactúan socialmente entre sí.
3. Evaluar mediante un diseño experimental que permite el contacto social efectivo entre las aves, si dichas preferencias podrían estar relacionadas a la agresividad del macho (según criterio desarrollado en 1) con el cual convivieron (experiencia social previa).

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y condiciones de cría

Los estudios fueron desarrollados utilizando codornices japonesas de ambos sexos, criadas y alimentadas según metodologías de rutina en nuestro laboratorio (Guzman, Pellegrini et al. 2013). Durante sus primeras 4 semanas de vida, las aves fueron alojadas en 6 cajas de cría de 90 x 90 x 90 cm (largo x ancho x alto), con temperatura y fotoperiodo controlados. En cada caja se alojaron aproximadamente 20 hembras y 20 machos, empleando un total de 240 individuos para este estudio. El manejo de la temperatura en las cajas de cría se realizó de acuerdo al método descrito por Shanaway (1994), donde se practica un descenso gradual de la temperatura desde aproximadamente 37° C cuando nacen las aves hasta alcanzar una temperatura ambiente de aproximadamente 31° C a los 14 días de edad.

Cuando los animales alcanzaron los 28 días de edad (tiempo suficiente para poder distinguir el sexo por el plumaje), 180 individuos fueron realojados en parejas mixtas (1 macho y 1 hembra) en jaulas individuales de 40 x 20 x 20 cm (largo x ancho x alto) en 3 baterías de 30 jaulas cada una. Desde su nacimiento y hasta la finalización del estudio las aves fueron criadas bajo un fotoperiodo de 14 horas de luz y 10 de oscuridad. Las luces se encendían a las 06:00 (200-300 lux de tubos fluorescentes -TLD 36w/54- /frente de las jaulas). Las aves disponían de agua y comida (alimento balanceado acorde a la especie y edad) *ad libitum* durante todo el estudio. La temperatura del ambiente de cría donde se ubicaron las jaulas de cría se mantuvo a $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$ por medio de un sistema de aire acondicionado frío/calor.

Descripción de las variables comportamentales* registradas durante este trabajo:

1. Picotazos: Acción de contacto de un individuo hacia otro utilizando el pico, que puede estar dirigida hacia la cabeza o cuello principalmente, o hacia el resto del cuerpo en menor frecuencia. El comportamiento cesa cuando ya no hay contacto entre el pico de un individuo y el cuerpo del otro animal.
2. Atrapes: Acción por parte de un individuo de sujetar a otro por las plumas de la cabeza o cuello utilizando el pico. Comportamiento involucrado en la cópula. El comportamiento cesa cuando ya no hay sujeción de las plumas del individuo opuesto.

3. Montas: Movimiento que realiza el macho al subirse a la espalda del otro individuo. El animal permanece apoyado con sus dos patas sobre la espalda del otro animal y puede ayudarse realizando el comportamiento de atrape para mantenerse arriba. El comportamiento cesa cuando el animal ya no se encuentra sobre la espalda del otro individuo.
4. Contacto cloacal efectivo: Comportamiento de cópula generalmente asociado a una inseminación exitosa, en el que el macho que ya se encuentra posicionado encima de la hembra (monta) y se mantiene sujeto de las plumas de su cabeza utilizando su pico (agarre), se arquea de modo tal de que logra contactar su cloaca con la cloaca de la hembra. Puede haber un despliegue de alas para ayudar a mantener el equilibrio encima de la otra ave. La hembra (que se encuentra debajo) puede (o no) arquearse de modo que su cloaca quede más expuesta para facilitar el contacto. El comportamiento cesa cuando las cloacas ya no se encuentran en contacto.
5. Persecuciones: Ambulación que realiza un animal desplazándose en dirección hacia otro animal. El comportamiento cesa cuando el animal se queda quieto o se mueve en otra dirección.
6. Huidas: Movimiento de escape que puede ser corriendo, saltando o caminando, en respuesta a otro animal que lo persigue. El comportamiento cesa cuando el otro individuo deja de perseguirlo y éste se queda quieto.
7. *(Adaptadas de Ramenofsky 1984).

Fase I

Evaluación durante período de cría del entorno social de la hembra (tipo de interacción macho-hembra):

Con el objetivo de valorar la historia social previa y/o el grado de estrés social (por agresiones entre los individuos) al que estuvieron expuestas las hembras experimentales previamente al experimento de preferencia, a partir de los 77 días de edad, habiendo alcanzado los animales la madurez sexual, se registró el comportamiento de cada pareja en sus jaulas de cría. Para cada jaula (pareja de aves alojadas) se realizó un total de 9 registros de 20 minutos cada uno (siempre en el horario de la mañana, entre las 9:00 y las 12:00 y sólo un registro por día). Dichos registros se realizaron a intervalos de entre 3 a 4 días y mediante muestreo continuo del

animal focal (macho) (Altmann 1974). Durante cada muestreo se registró el número de picotazos dados por el macho a la hembra, picotazo hembra-macho, intentos de copula (atrapes, montas, contacto cloacal) y persecuciones. A los 84 y 98 días de edad se realizó la valoración del estado de bienestar de las hembras, mediante el protocolo propuesto por el WQC (Welfare_Quality®_consortium 2009), originalmente diseñado para gallinas ponedoras y adaptado en este trabajo para su uso en codornices. Este protocolo considera al estado del plumaje y de la piel como variables de diagnóstico principales y de su aplicación surge un valor numérico (score) particular para cada ave evaluada.

Luego de finalizados los análisis, el número total de picotazos registrados para cada macho hacia su hembra (para los 180 minutos totales de observación) fue utilizado como criterio de clasificación para cada pareja. Se definieron 3 categorías posibles de acuerdo al grado de agresividad observada en el macho (Fig: 1):

- Machos de alta agresividad (**MA**) y Hembras hostigadas (**HH**). Correspondiente a las parejas con machos con más de 5 picotazos registrados hacia sus hembras durante los registros.
- Machos de agresividad nula (**MN**) y Hembras no hostigadas (**HNH**). Correspondiente a las parejas con machos que no registraron ningún picotazo hacia sus hembras.
- Machos de agresividad intermedia (**MI**) y Hembras con nivel de hostigamiento intermedio (**HI**). Correspondiente a las parejas con machos con entre 1 y 5 picotazos registrados hacia sus hembras durante los registros.

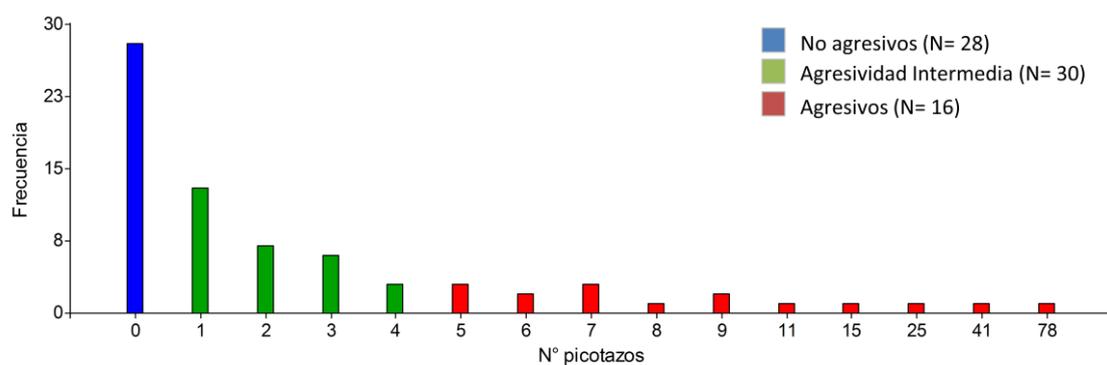


Figura 1: Distribución de machos clasificados como No agresivos, de Agresividad intermedia y Agresivos en de la población experimental (N=74).

El resto de las variables registradas fueron utilizadas para evaluar su grado de relación con la variable principal elegida como criterio de clasificación (picotazos del macho hacia la hembra). Se considera que relaciones positivas entre la variable elegida como criterio de clasificación y las otras variables relacionadas con el bienestar de las hembras serían buenos indicadores de una elección correcta del criterio de clasificación. Para descartar un potencial efecto del tamaño de las aves alojadas en cada jaula de cría y los niveles de agonismo observados en dicha jaula, se realizaron pruebas estadísticas para determinar si existía correlación entre: el peso corporal de los machos, el peso corporal de las hembras, la diferencia de peso entre parejas alojadas y el número de picotazos del macho a la hembra observados en esa jaula. No se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre estas variables ($P= 0,48$; $0,63$ y $0,43$ respectivamente).

Fase II

Colocación de la Barrera Física Individual:

Acorde al diseño experimental planteado para este trabajo, y con el fin de permitirles a las aves la habituación al dispositivo (Pellegrini, Marin et al. 2015), el BFI fue colocado a los machos señuelo (pertenecientes a la categoría MI) 7 días previos a la fecha en la que serían observados por las hembras experimentales en una interacción social entre pares (Fase III), ya que inmediatamente después de finalizado dicho tratamiento se evaluó la preferencia de las hembras experimentales (HH y HNH) por dichos machos (Fase IV), que se estimaba resultarían o ganadores o perdedores en la interacción social previa entre machos (Fase III). Una vez que el dispositivo fue colocado, los machos fueron alojados nuevamente en sus jaulas de cría, se esperaba de esta forma que las hembras se familiaricen también con el dispositivo colocado sobre el macho, no resultándoles entonces un objeto novel al verlo montado sobre los machos desconocidos a los que observarían interactuar socialmente entre sí.

Como ya se mencionó en la introducción, el BFI consiste en una barra de metal de 12 cm de largo x 1 mm de diámetro, adherida a un arnés plástico que se sujeta al lomo del animal con 2 bandas elásticas alrededor de la base de las alas (Figura 2, a, b y c).

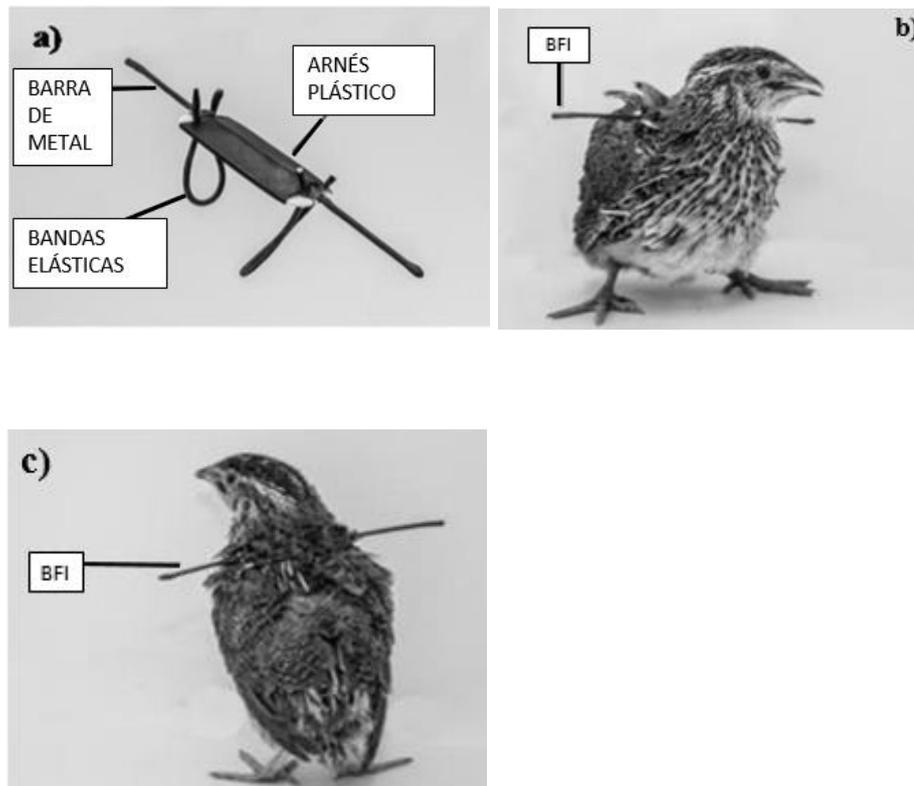


Figura 2: a) Barrera Física Individual; b) Animal visto de frente con el BFI colocado; c) Animal visto de espalda con el BFI colocado.

El BFI trabaja en conjunto con una barrera creada para tal fin, la cual posee un orificio a modo de puerta (Figura 3) por el que pueden circular libremente los animales sin BFI, mientras que los animales con el dispositivo colocado no pueden atravesarlo.



Figura 3: Barrera de rejilla con orificio/puerta creada para exclusivo uso asociado al BFI.

Fase III

Situar a las hembras HHs y HNHs como audiencia de una interacción agonista entre 2 machos entre los cuales ellas tendrán posteriormente la posibilidad de elegir con cual interactuar (ejercer su preferencia).

En estudios preliminares se observó que cuando se hacía interactuar a machos clasificados como MA (por su comportamiento con hembras) con otros machos, estos mostraban respuestas agonistas exacerbadas hacia ellos (ver anexo de esta Tesina) sobre todo si los otros machos eran de categoría MN. Cuando se hicieron interactuar 2 machos MI entre sí, si bien expresaron comportamientos agonistas (lo que nos permitió definir a un Ganador y un Perdedor de la interacción) la intensidad de dichos comportamientos fue notablemente inferior. Considerando factores relacionados al bienestar de los animales y nuestro interés por evaluar la interacción entre machos por periodos prolongados (1 hora), con el fin de recolectar mayor número de datos comportamentales (especialmente por parte de las hembras que actúan como audiencia), fue que se decidió utilizar 2 machos clasificados como MI para esta fase del trabajo. Se considera que este diseño experimental otorga dos ventajas adicionales: a) se reduce el número de muestras necesarias al quitar un factor del análisis estadístico (machos MN vs. MA) cuando se analizan las preferencias de las hembras por los machos que observaron interactuar, y b) Los machos MI son los que estuvieron mayormente representados en nuestra muestra (Figura 1) por lo que probablemente serían también los más similares para esta condición a los utilizados en el experimento desarrollado por Ophir y Galef (2003), donde los machos fueron tomados al azar de un grupo.

En esta Fase III entonces se evaluó durante 1 hora la interacción entre 2 machos clasificados como de agresividad intermedia (**MI**) (Fase II) frente a una audiencia de hembras que estuvo compuesta por una 1 hembra que fue hostigada (**HH**) y por 1 hembra que no fue hostigada (**HNH**) durante el período de cría (Fase I), al momento de ser evaluadas todas las aves eran desconocidas entre sí ya que cada ave (tanto machos como hembras) provenían de parejas distintas alojadas en diferentes jaulas de cría.

Debido a limitaciones operativas las pruebas de preferencia de las HHs y HNHs (y las fases experimentales relacionadas) fueron realizadas en 4 tandas consecutivas con 4 aparatos de prueba utilizados en forma simultánea. Las 3 primeras tandas se realizaron con intervalos de 48 hs entre ellas, mientras que la última tanda se realizó cuatro días después de la tercera. De esta manera durante cada tanda se realizaban 4 interacciones agonistas, seguidas por 4 pruebas de preferencias de 8 horas. Dependiendo de la tanda experimental en que las aves fueron evaluadas, estas tuvieron entonces 119, 121, 123 o 127 días de edad respectivamente.

El aparato de prueba consistió en una caja melamina blanca (de 90 x 43 x 40 cm; ancho, largo, alto), con agua y alimento *ad libitum*. La caja fue dividida en 3 compartimientos mediante dos divisiones de reja (sin orificios). En cada uno de los compartimientos extremos se alojó a cada hembra, mientras que en el compartimiento central se alojaron 2 machos (Fig.4):

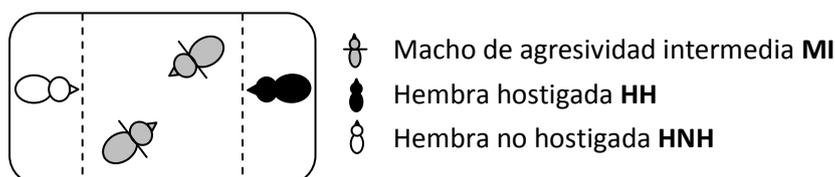


Fig. 4: Aparato de prueba para situar a las hembras como audiencia de una interacción agonista entre dos machos clasificados como agresividad intermedia en el centro del aparato. En los extremos, se ubican las hembras hostigadas y no hostigadas, audiencia de la prueba. Las líneas de punto representan rejas.

Luego de alojar las hembras, se dio por iniciada la prueba al colocar a ambos machos en la zona central del aparato de prueba. Mediante el uso de una cámara de vídeo colocada sobre el aparato de prueba (2 m de altura), el comportamiento de las aves fue registrado en video durante 60 min usando el programa informático ANY-maze (2016). Esta disposición aseguró que el experimentador estuviera completamente oculto de la vista de las aves durante la prueba. La posición de las hembras (derecha/izquierda) de acuerdo a su categoría (HH y HNH) fue alternada entre prueba y prueba. El programa ANY-maze (2016) fue también utilizado para analizar el comportamiento de las aves durante la prueba (etograma + locomoción). Para resguardar la integridad física de los machos evaluados, si durante el encuentro una de las aves recibió más de 5 picotazos consecutivos y / o mostró un comportamiento claro de escape (recuperación), y / o mostró algún signo de daño físico, el encuentro fue inmediatamente interrumpido.

Se realizaron un total de 12 interacciones agonistas donde participaron un total de 24 machos MI, estas 12 interacciones fueron observadas por 12 pares de hembras (cada par compuesto por una hembra HH y una hembra HNH). Para definir al macho ganador y perdedor de cada encuentro agonista se registró durante cada encuentro:

- el n° de atrapes entre machos:
- el n° de montas entre machos:
- el n° de picotazos entre machos:
- el n° de persecuciones entre machos:

En base a la sumatoria de número de veces que se observó a cada macho realizar cada uno de estos comportamientos hacia el otro fue que estos fueron caracterizados como *ganadores* o *perdedores* del encuentro agonista observado por las hembras.

La necesidad de clasificar a los machos como ganadores o perdedores del encuentro presenciado por las hembras HHs y HNHs se basó en uno de los objetivos específicos de este trabajo que fue evaluar si el desempeño de estos machos en la interacción agonista afecta la posterior preferencia hacia ellos por partes de las hembras con diferentes experiencias sociales previas.

Para evaluar si todas las variables comportamentales incluidas en la clasificación de estos machos hicieron un aporte significativo, estas fueron analizadas estadísticamente en forma independiente considerando la categoría macho ganador y perdedor como niveles del factor.

Fase IV

Prueba de Preferencia en hembras:

Una vez finalizada la interacción entre los dos machos clasificados como agresividad intermedia (MI), se procedió a evaluar la preferencia de una las hembras que formaron parte de la audiencia del encuentro (HH o HNH) hacia estos machos que observaron interactuar.

El aparato de prueba consistió en una caja de melamina blanca (de 90 x 43 x 40 cm; ancho, largo, alto), con agua y alimento *ad libitum*, la caja estaba dividida en 3 compartimientos mediante dos divisiones de reja con orificios que podían atravesar las hembras sin BFI, en los compartimientos de los extremos se alojó a cada macho (con BFI), mientras que en el compartimiento central se alojó la hembra a ser evaluada (Fig.5):

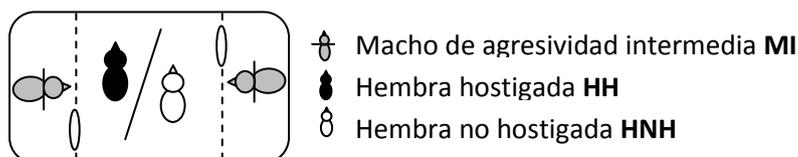


Fig. 5: Aparato de prueba para evaluar preferencia de hembras clasificadas como hostigadas y no hostigadas. En los extremos, se ubican los machos que interactuaron previamente. Las líneas de punto representan rejas con orificios para permitir el paso de las hembras.

La posición de los machos en la caja (hacia derecha o izquierda) de acuerdo a su categoría (ganador y perdedor) fue alternada entre prueba y prueba. Al igual que los experimentos realizados por Ophir y Galef (2003) las hembras ingresaron al aparato de prueba inmediatamente después de haber presenciado la interacción entre los machos, y se las mantuvo en la prueba durante 8 horas.

Cada registro fue posteriormente analizado mediante la observación de las grabaciones de video. Los datos tomados en ventanas de tiempo diferentes (10 min u 8 hs) se presentan de acuerdo a los objetivos específicos e interrogantes puntuales que se desean abordar:

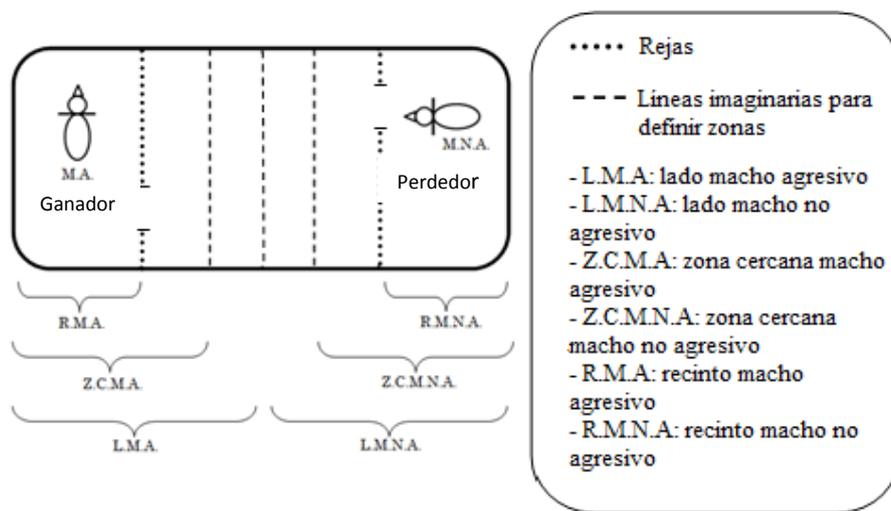
- A. Primeros 10 minutos de prueba. Este análisis se realizó para poder comparar los resultados obtenidos con los informados por Ophir y Galef (2003) en el cual ellos evalúan la preferencia de las hembras en una prueba de 10 minutos.
- B. Duración total, periodo de 8 horas registrado desde que los animales son introducidos a la caja experimental hasta que son retirados de la misma.

Para todos los segmentos de tiempo analizados se evaluó el número de veces, la latencia (tiempo transcurrido desde el inicio de la prueba hasta el primer registro) y el tiempo que cada hembra permaneció en cada una de las 6 zonas en que fue dividido el aparato de prueba, dos de estas zonas correspondieron a compartimientos reales donde se alojaron los machos y las restantes fueron delimitadas para el análisis de las filmaciones mediante el trazado de líneas imaginarias (Figura 6a para el análisis de los primeros 10 minutos de prueba, Figura 6b para el registro de 8 horas). Estas zonas fueron delimitadas para establecer la preferencia espacial de las hembras hacia cada uno de los machos alojados como señuelos (clasificados como ganadores o perdedores en la Fase II). Este análisis se realizó en forma automática para los registros del tipo A (mediante el uso del programa informático ANY-maze (2016)) , y en forma manual (observación de la filmación y registro por escrito) para el registro B (tiempo total), por lo cual el análisis de zonas de permanencia debió ser levemente simplificado.

Para el registro del tipo B se evaluó también el desempeño de cada hembra mediante el registro manual de variables relacionadas tanto a comportamientos reproductivos (número de atrapes, montas y contactos cloacales) como a comportamientos agonistas (número de picotazos, persecuciones y huidas).

Con el objetivo de caracterizar con más detalle la dinámica de las interacciones sociales se registraron también las latencias de ingreso de las hembras a las zonas en los que se dividió el aparato de prueba, las latencias corresponden al periodo de tiempo, contando desde el inicio de la prueba que transcurre hasta que se observa al ave experimental ingresar por primera vez a una determinada zona del aparato de prueba. En el caso de que el ave no ingresara nunca a una determinada zona, se les adjudicaba el valor máximo de latencia que corresponde al de la duración total de la prueba (600 o 3600 s, dependiendo de si el registro es parcial o completo).

a)



b)

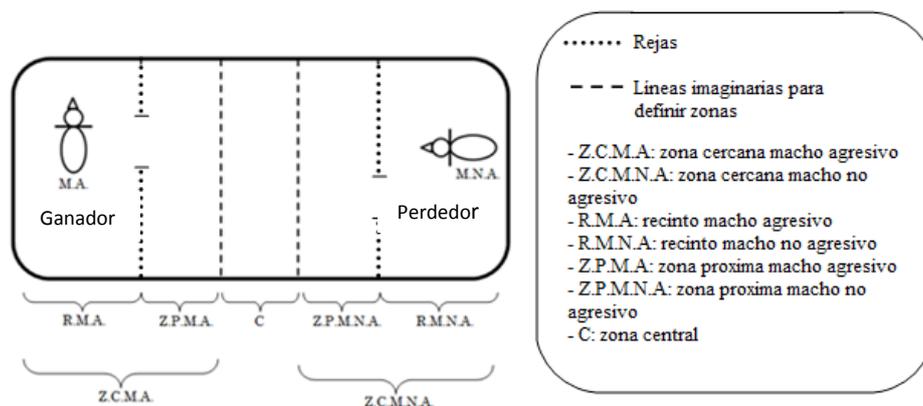


Figura 6 (a y b): Diagramas de la división en zonas del aparato de pruebas para evaluar las preferencias de HHs y HNhs entre machos que resultaron ganadores o perdedores en una interacción social de la cual las hembras fueron audiencia. La ubicación de los MA a la derecha del aparato de prueba es presentada a modo de ejemplo, ya que su posición fue alternada entre prueba y prueba. Figura 6a: Diagrama de la división en zonas del aparato de prueba utilizada

para analizar los primeros 10 minutos de prueba, Figura 6b: Diagrama de la división en zonas del aparato de prueba utilizada para analizar la prueba en su duración total (8 horas).

Análisis estadístico:

Las variables registradas durante la evaluación del entorno social de la hembra en su jaula de cría como así también las variables comportamentales relacionadas con la clasificación de los machos MI como ganadores o perdedores de la interacción social presenciada por las hembras HHs y las HNHs, se analizaron usando el Modelo lineal mixto generalizado (MLGM). Se utilizó una distribución de errores de Poisson bajo la función función log-link, con la “Categoría del Macho” como efecto fijo (para ambos análisis) y la identificación del animal (para las variables analizadas en las jaulas de cría) o el número de encuentro (para las variables resultantes de la interacción entre machos de agresividad intermedia) como efecto aleatorio respectivamente. La prueba de Fisher LSD fue empleada para la comparación de medias individuales a posteriori. Un valor de $P < 0,05$ fue considerado como representante de diferencias significativas. Se empleó el software estadístico *Infostat* (Di Rienzo, Casanoves et al. 2015).

Las diferencias entre tratamientos para el tiempo registrado en LM, latencia entrada a ZC, N° de entradas a ZC y tiempo en ZC en las preferencias de hembras (Fase IV) para 10 minutos de duración de la prueba, se determinaron mediante un ANOVA para Modelos lineales generales y mixtos con los tratamientos “Categoría macho” (Ganador o Perdedor) y “Experiencia social previa de hembras” (Hembras hostigadas y no hostigadas) como efectos fijos. El número de preferencia evaluada se incluyó como efecto aleatorio. La prueba DGC (Di Rienzo, Guzman et al. 2002) fue empleada para la comparación de medias individuales a posteriori. Un valor de $P < 0.05$ fue considerado como representante de diferencias significativas. Se empleó el software estadístico *Infostat* (Di Rienzo, Casanoves et al. 2015).

Las proporciones de hembras HH y HNH que visitaron a alguno de los machos y categoría del 1° macho visitado fueron analizadas mediante una Prueba de Proporciones que relaciona el N° de eventos totales y N° de eventos exitosos para cada variable. Para realizar estos análisis se utilizó el software estadístico *Statistix* (2008) y un valor de $P < 0,05$ fue considerado como representante de diferencias estadísticamente significativas.

Por último, el análisis de las variables relacionadas al comportamiento de HHs y HNHs en una prueba de 8 horas de duración donde se evaluó la preferencia de estas

hembras entre 2 machos categorizados como ganadores o perdedores se realizó mediante la estadística no paramétrica Kruskal-Wallis para un nivel de confianza (α) = 0,05. Para estos análisis estadísticos se empleó el software estadístico *Infostat* (Di Rienzo, Casanoves et al. 2015).

A excepción de los datos analizados con el test de proporciones mediante el software Statistix, todos los otros modelos utilizados se ajustaron usando las bibliotecas *nlme*, *glm* y *glmer* de R a través de una interfaz implementada en el software estadístico *Infostat* (Di Rienzo, Casanoves et al. 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase I

Evaluación durante período de cría del entorno social de hembra (tipo de interacción macho-hembra):

El número de picotazos dados por el macho hacia la hembra en las jaulas de cría mostró ser un criterio de clasificación efectivo de machos agresivos, no agresivos y de agresividad intermedia, ya que, cuando se utilizaron estas categorías de machos (MA, MNA, MI) como niveles del factor (agresividad de los machos) para analizar el resto de las variables registradas en las jaulas de cría (potencialmente asociadas también al bienestar de las hembras), se observaron importantes diferencias altamente significativas en las variables número de atrapes y número de persecuciones del macho a la hembra y en el estado de plumaje de la hembra (Tabla 1). Se destaca en particular las diferencias observadas en el estado del plumaje de las hembras que se evaluó según protocolos sugeridos por el Welfare_Quality@_consortium (2009). Las hembras alojadas con machos agresivos mostraron los niveles más elevados para esta variable (mayor puntaje = peor condición de plumaje), mientras que las aves alojadas con MI mostraron valores intermedios. Por otro lado, como se mencionó en la introducción, tanto el cortejo como la cópula de esta especie parecer ser (para un observador humano) de tipo coercitivo (Adkins-Regan 1995) y potencialmente dañino (Persaud y Galef Jr 2004) para la integridad física de la hembra. En relación a los comportamientos sexuales, se observó que los MA mostraron mayor número de persecuciones hacia sus hembras, sin embargo no se encontraron diferencias para el número de contactos cloacales entre las categorías de macho, lo que indicaría que los MA tenderían a iniciar mayor número de secuencias copulatorias (comportamientos potencialmente en detrimento para el bienestar de la hembra) para lograr el mismo número de copulas efectivas que los MI y MNA.

Por lo descrito en los párrafos anteriores se considera que se han aportado importantes evidencias para considerar que las hembras denominadas hostigadas (HH) estuvieron expuestas a diferentes grados de estrés social (por los niveles de agonismo observados dentro de la jaula) al que estuvieron expuestas las hembras denominadas no hostigadas (HNH) y por consiguiente es posible considerar la posibilidad de que estas hembras llegaron a la fase IV de este trabajo experimental habiendo transcurrido historias sociales de vida diferentes.

TABLA 1: Evaluación del entorno social de las hembras en su jaula de cría (tipo de interacción macho-hembra) luego de haber considerado el número de picotazos dados por el macho hacia la hembra como criterio de clasificación de machos agresivos (MA), no agresivos (MN) y de agresividad intermedia (MI). ^{a, b}Letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos, los valores se expresan como: Media ± EE.

VARIABLES	CATEGORÍA MACHO			Chi-square, df (2)	VALOR - P
	MA (n=16)	MI (n=30)	MNA (n=28)		
N° de picotazos del macho a la hembra	12,01 ± 2,09	1,68 ± 0,31	0,00 ± 0,00	Criterio de clasificación	
N° de atrapes del macho a la hembra	10,53 ± 1,69 a	6,89 ± 0,9 b	4,19 ± 0,78 c	13,12	0,0014
N° persecuciones del macho a la hembra	5,13 ± 1,27 a	1,12 ± 0,29 b	0,62 ± 0,23 b	25,88	<0,0001
N° de intentos de monta	5,68 ± 0,92 a	5,93 ± 0,73 a	3,85 ± 0,69 a	4,43	0,1
N° de contactos cloacales	0,13 ± 0,11 a	0,05 ± 0,05 a	0,07 ± 0,08 a	0,96	0,61
Estado del plumaje de la hembra	1,19 ± 0,27 a	0,68 ± 0,16 ab	0,31 ± 0,14 b	8,81	0,01

Fase II

Aplicación de la Barrera Física Individual:

No se presentan resultados de esta etapa ya que esta metodología ya ha sido estudiada y validada (Pellegrini et al., 2014).

Fase III

Situar a las hembras HHs y HNHs como audiencia de una interacción agonista entre 2 machos entre los cuales ellas tendrán posteriormente la posibilidad de interactuar y ejercer una potencial preferencia.

Como se describe en Materiales y Métodos se definió al macho ganador y perdedor de cada encuentro entre MI en base a la sumatoria de número de veces que los machos realizaron hacia el otro macho alguno de una serie de comportamientos considerados conductas agonistas (atrapes, montas, picotazos y persecuciones) (Schlinger y Callard 1990). El analizar estadísticamente estas variables considerando la categoría macho ganador vs. macho perdedor como niveles del factor aporta evidencias que nos permiten sugerir que todas las variables comportamentales consideradas hicieron un aporte significativo para definir el criterio de clasificación, ya que para todas ellas se encontraron diferencias significativas entre los machos clasificados como ganadores vs. aquellos clasificados como perdedores (Tabla 2)

TABLA 2: Aporte relativo de cada una de las variables comportamentales consideradas para calcular el criterio de clasificación de los machos de agresividad intermedia como ganadores o perdedores de la interacción social presenciada por las hembras hostigadas y las hembras no hostigadas. ^{a, b}Letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos (Media \pm E.E.).

VARIABLES	CATEGORÍA MACHO		Chi-square, df (1)	VALOR - P
	GANADOR	PERDEDOR		
N° PICOTAZOS	1.37 \pm 0.59 a	0.21 \pm 0.13 b	21.99	<0.0001
N° ATRAPES	2.72 \pm 1.07 a	0.74 \pm 0.34 b	24.3	<0.0001
N° MONTAS	0.76 \pm 0.46 a	0.16 \pm 0.11 b	13.54	0.0002
N° PERSECUCIONES	2.53 \pm 1.19 a	0.32 \pm 0.19 b	42.23	<0.0001

MI: Machos de agresividad intermedia; HH: hembras hostigadas por el macho en su jaula de cría; HNH: hembras no hostigadas por el macho en su jaula de cría.

Fase IV

Prueba de Preferencia en hembras:

A. **Primeros 10 minutos de la prueba de preferencia.** Del análisis estadístico de las variables registradas (presentados en la Tabla 3) se observa que las HNH pasaron más tiempo (preferencia afiliativa) en el lado del aparato de prueba donde estaba

alojado el macho “ganador” (machos que ellas observaron previamente exhibiendo mayores niveles de agonismo hacia otro macho), mientras que las HH mostraron una preferencia opuesta, ya que permanecieron más tiempo en el lado del aparato de prueba donde estaba alojado el macho “perdedor” (machos que ellas observaron previamente exhibiendo menores niveles de agonismo hacia otro macho) ($F_{(2,11)}= 5,26$; $P= 0,047$). La misma relación significativa se obtuvo cuando se comparó el tiempo de permanencia de las HHs y HNHs en la Zona Cercana al recinto de los machos ($F_{(2, 11)}= 5,17$; $P= 0,049$). Cuando se analizó la latencia de entrada de las HHs y HNHs a las Zonas Cercana a los machos “ganadores” y “perdedores” no se observó una interacción significativa entre las categorías de hembras y las de machos. Sin embargo, si se encontraron efectos significativos de la categoría del macho, donde los machos “perdedores” fueron los primeros visitados independientemente de la categoría de las hembras ($F_{(2, 11)}= 6,81$; $P= 0,029$; $50,7 \pm 33,7$ y $175,1 \pm 33,7$ s para machos “perdedores” y “ganadores” respectivamente (Medias \pm E.E.).

Cuando se analizó el número de entradas de las HHs y HNHs a las Zonas Cercana a los machos “ganadores” y “perdedores” no se observó una interacción significativa entre las categorías de hembras y de machos. Sin embargo, si se observaron diferencias significativas entre las categorías de hembras, siendo las HH las que realizaron mayor número de visitas a la Zona Cercana a los machos independientemente de la categoría de estos machos (“ganadores” o “perdedores”) ($F_{(2, 11)}= 6,00$; $P= 0,038$; $8,1 \pm 1,5$ y $3,17 \pm 1,4$ para HH y HNH, respectivamente (Medias \pm E.E.). Sólo 3 de las 11 hembras evaluadas entraron (visitaron) a alguno de los recintos que alojaban a los machos y debido a esa baja proporción, se registró un alto número de ocurrencias nulas o latencias máximas para las variables evaluadas en dicha zona y por lo tanto, las variables Latencia entrada a **Recinto Machos**, N° de entradas a **Recinto Machos** y Tiempo en **Recinto Machos** no pudieron ser analizadas estadísticamente lo que hubiera permitido interpretar mejor otros potenciales consecuencias del tipo de interacción social al que fueron sometidos los animales.

Estos análisis (primeros 10 minutos de la prueba de preferencia) se realizaron para poder cotejar los resultados del presente trabajo con los presentados en la publicación de Ophir y Galef (2003), los resultados obtenidos aportan importantes evidencias para considerar que la hipótesis propuesta por Ophir y Galef (2003) no se podría generalizar a todas las hembras sexualmente experimentadas, siendo solo las

hembras que interactuaron con machos agresivos las que muestran preferencias afiliativas con machos perdedores de un encuentro agonista por ellas previamente presenciado. De este modo, cobra fuerza entonces la nueva hipótesis planteada en este trabajo donde se propone que las preferencias de las hembras por machos que resultaron perdedores o ganadores de un encuentro agonista están fuertemente relacionadas a la experiencia social previa de esa hembra con otros machos.

TABLA 3: Variables relacionadas a la locomoción de hembras hostigadas y hembras no hostigadas durante los primeros 10 minutos de una prueba donde se evaluó la preferencia de estas hembras entre 2 machos a los que ellas observaron expresar diferentes niveles de agresividad en una interacción social previa (categorizados como ganadores o perdedores).

VARIABLES	HH (n=5)		HNH (n=6)		F _(2, 11)	VALOR - P
	MACHO GANADOR	MACHO PERDEDOR	MACHO GANADOR	MACHO PERDEDOR		
Tiempo en LM (s)	245 ± 71 b	355 ± 71 a	401 ± 65 a	199 ± 64 b	5,26	0,047
Latencia entrada a ZC (s)	173 ± 50 a	44 ± 50 a	177 ± 45 a	57 ± 45 a	0,01	0,92
Nº de entradas a ZC	6,2 ± 2 a	10 ± 2 a	3,5 ± 1,8 a	2,8 ± 1,8 a	1,59	0,23
Tiempo en ZC (s)	109 ± 61 b	202 ± 61 a	197 ± 55 a	34 ± 55 b	5,17	0,049

HH: hembras hostigadas por el macho en su jaula de cría; HNH: hembras no hostigadas por el macho en su jaula de cría. LM: Lado Macho, ZC: Zona cercana; RM: Recinto macho, (s)= segundos. ^{a, b}Letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos, los valores se expresan como: Media ± EE.

B. Análisis para la duración total de la prueba de preferencia, periodo de 8 horas registrado desde que las hembras son introducidas a la caja experimental hasta que son retiradas de la misma.

Del total de 11 hembras estudiadas (HH n=5; HNH n=6), sólo 2 hembras de categoría HH no visitaron ninguno de los recintos de machos presentados como opción. Estas proporciones (0,4 vs. 1) se diferenciaron estadísticamente según la prueba de proporciones ($Z=1.71$; $P= 0,043$); cuando se analizó para estas mismas hembras cual fue la categoría del macho que fue visitado en primera instancia, se observó que 5 de las 6 aves HNH visitaron en primer lugar al macho clasificado como ganador del encuentro agonista mientras que solo 1 ave HH eligió a ese macho tipo de macho como primera opción ($Z=-2,1$; $P= 0,01$). Estos resultados sugieren una menor atracción de las HHs por visitar el recinto de los machos (independientemente de si estos fueron los perdedores o los ganadores durante la interacción presenciada por dichas hembras). Paralelamente estos resultados aportan evidencias adicionales para considerar que los machos ganadores durante la interacción presenciada previamente por HNHs son generalmente preferidos como primera opción por dichas hembras.

Los resultados para el resto de las variables comportamentales registradas durante las 8 horas de prueba se detallan en la Tabla 4. A pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para ninguna de estas variables, los valores de medias aritméticas obtenidos parecen acompañar el resto de los resultados ya descritos, sin embargo y debido posiblemente al reducido número de hembras que se pudieron estudiar, estas medias aritméticas fueron asociadas a una importante alta variabilidad en la respuesta de cada ave lo que dificultó su ajuste a modelos estadísticos conocidos como de mayor potencia (ej. Modelos lineales generales o Generalizados Mixtos) que los no paramétricos que se debieron aplicar.

TABLA 4: Variables relacionadas al comportamiento de hembras hostigadas y hembras no hostigadas en una prueba de 8 horas de duración donde se evaluó la preferencia de estas hembras entre 2 machos a los que ellas observaron expresar diferentes niveles de agresividad en una interacción social previa (categorizados como ganadores o perdedores).

VARIABLES	HH (n=5)		HNH (n=5)		Valor de H	VALOR - P
	MACHO GANADOR	MACHO PERDEDOR	MACHO GANADOR	MACHO PERDEDOR		
Tiempo en ZC (s)	8557 ± 1875	13098 ± 1187	8313 ± 1380	11508 ± 3021	3,95	0,26
Tiempo en ZP (s)	6940 ± 1668	9952 ± 1897	6982 ± 962	6893 ± 1725	2,66	0,44
Latencia entrada a RM (s)	19395 ± 5880	17868 ± 5599	12950 ± 4363	18010 ± 4031	1,40	0,69
Tiempo en RM (s)	1617 ± 1056	3145 ± 1934	1331 ± 737	4615 ± 3957	0,87	0,82
Duración de las visitas a RM (s)	142 ± 94	125 ± 73	334 ± 172	1752 ± 1307	2,47	0,46
N° de entradas a RM	4,6 ± 2,8	15,6 ± 10,7	4,6 ± 2,2	2,4 ± 1,2	1,36	0,70
N° de picotazos recibidos	1,4 ± 1,2	15,8 ± 15,8	0,4 ± 0,4	0,0 ± 0,0	1,05	0,54
N° de picotazos dados	0,2 ± 0,2	2,6 ± 2,1	0,6 ± 0,6	0,0 ± 0,0	1,28	0,45
N° de atrapés	4,40 ± 3,30	3,40 ± 3,40	3,80 ± 1,74	1,20 ± 0,58	1,67	0,59
N° de montas	6,00 ± 5,3	1,60 ± 1,6	1,40 ± 0,75	1,80 ± 0,97	0,75	0,82
N° de Contactos Cloacales	2,00 ± 1,38	0,20 ± 0,20	0,80 ± 0,37	0,40 ± 0,24	1,43	0,60
N° de Persecuciones	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,43	0,39
N° de Huidas de la hembra	3,00 ± 2,32	2,40 ± 2,40	2,40 ± 1,03	0,40 ± 0,40	2,62	0,34

HH: hembras hostigadas por el macho en su jaula de cría; HNH: hembras no hostigadas por el macho en su jaula de cría. ZC: Zona cercana; ZP: Zona Próxima y RM: Recinto macho, (s)= segundos. Incluye las medias ± los errores estándar para cada caso. Los valores de H y P derivaron de el análisis estadístico no paramétrico de Kruskal Wallis para un nivel de confianza (α) = 0,05.

CONCLUSIONES

Las nuevas evidencias presentadas en este trabajo tienen importantes implicancias teóricas y aportan elementos importantes para entender la complejidad en el comportamiento de elección de parejas reproductivas por parte de las hembras de codorniz japonesa. La controversia planteada en la introducción sobre la tendencia observada por parte de las hembras experimentadas sexualmente de evitar o no preferir a los machos más agresivos, y presumiblemente dominantes descripta por Ophir y Galef (2003), se resuelve en este trabajo que considera la experiencia social previa de las hembras para con otros machos. A partir de la aplicación de este nuevo diseño experimental, se observó que solo las hembras que interactuaron previamente con machos agresivos son las que muestran preferencias afiliativas con machos menos agresivos y/o perdedores de un encuentro agonista previamente presenciado por ellas; no ocurre así con las HNH que prefirieron a los machos ganadores (relativamente más agresivos en la interacción social previamente observada por ellas). Por lo tanto cobra fuerza entonces nuestra hipótesis que propone que las preferencias de las hembras por machos que resultaron perdedores o ganadores de un encuentro agonista estarán relacionados a la experiencia sexual previa de esa hembra con otros machos. Se podría teorizar entonces que solo para las HHs la evaluación del costo resultante de una interacción social con un macho agresivo superaría a los beneficios teóricos reproductivos directos e indirectos que brindaría el apareamiento con machos conspecíficos de tipo dominante (y por lo tanto, los que están en mejores condiciones de proveer mejores recursos) como estrategia evolutiva (Qvarnström y Forsgren 1998). Queda abierta la discusión, pudiendo la misma ser incluso parte de posteriores trabajos, sobre si estos comportamientos de preferencia mostrados por las hembras experimentales hacia machos perdedores son exclusivos de los sistemas de cría modernos resultantes de una importante selección dirigida por productividad y supervivencia en condiciones de alto hacinamiento y donde las hembras no pueden escapar o ponerse fuera del alcance de los machos más agresivos (y/o ganadores) como una estrategia para auto regular el tipo de interacción que pueden ejercer con ellos.

Por otro lado, considerando que algunas hembras (HHs) mostraron cierta capacidad para identificar y evitar a los machos relativamente más agresivos, y si este comportamiento deletéreo de los machos hacia las hembras tuviera base genética (Boag y Alway 1981, Millman, Duncan et al. 2000), un sistema de cría donde las hembras puedan ejercer en forma efectiva sus preferencias por determinadas parejas

reproductivas (de tipo menos agresiva) mediante el empleo del sistema BFI, tanto por la exclusión por parte del productor de los machos menos preferidos por las hembras, como por la potencial auto-segregación del carácter resultante de la aplicación de este sistema de cría (donde las hembras ejercen su preferencia) se podrían obtener líneas genéticas de machos menos agresivos para su utilización en futuros sistemas de cría convencionales.

BIBLIOGRAFÍA

- Adkins-Regan, E. (1995). "Predietors of fertilization in the Japanese quail, *Coturnix japonica*." Animal Behaviour **50**(5): 1405-1415.
- Adkins-Regan, E. (1999). "Foam Produced by Male *Coturnix* Quail: What Is Its Function?" The Auk **116**(1): 184-193.
- Altmann, J. (1974). "Observational study of behavior: sampling methods." Behaviour **49**: 227-267.
- ANY-maze (2016). Stoelting, Co. Wood Dale, IL.
- Blokhuis, H. J., E. D. Ekkel, S. M. Korte, H. Hopster and C. G. van Reenen (2000). "Farm animal welfare research in interaction with society." Vet Q **22**(4): 217-222.
- Boag, D. A. and J. H. Alway (1981). "Heritability of dominance status among Japanese quail: a preliminary report." Canadian Journal of Zoology **59**(3): 441-444.
- Correa, S. M., C. M. Horan, P. A. Johnson and E. Adkins-Regan (2011). "Copulatory behaviors and body condition predict post-mating female hormone concentrations, fertilization success, and primary sex ratios in Japanese quail." Horm Behav **59**(4): 556-564.
- Cunningham, E. J. A. and T. R. Birkhead (1998). "Sex roles and sexual selection." Anim Behav **56**(6): 1311-1321.
- Chase, I. D. (1982). "Dynamics of Hierarchy Formation: The Sequential Development of Dominance Relationships." Behaviour **80**: 218-240.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada and C. W. Robledo (2015). InfoStat. Córdoba, Argentina, InfoStat Group, National University of Córdoba.
- Di Rienzo, J. A., A. W. Guzman and F. Casanoves (2002). "A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree." Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics **7**(2): 129-142.
- Estevez, I., L. J. Keeling and R. C. Newberry (2003). "Decreasing aggression with increasing group size in young domestic fowl." Applied Animal Behaviour Science **84**(3): 213-218.
- Forkman, B., A. Boissy, M. C. Meunier-Salaün, E. Canali and R. B. Jones (2007). "A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses." Physiology & Behavior **92**(3): 340-374.
- Gerken, M. and A. Mills (1993). Welfare of domestic quail. 4th European Symposium on Poultry Welfare. C. J. Savory and B. O. Hughes. Potters Bar, Universities Federation for Animal Welfare: 58-176.
- Gross, W. B. and H. S. Siegel (1983). "Evaluation of the Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens " Avian Diseases **27**: 972-979.
- Guzmán, D. A. (2016).
- Guzman, D. A., S. Pellegrini, J. M. Kembro and R. H. Marin (2013). "Social interaction of juvenile Japanese quail classified by their permanence in proximity to a high or low density of conspecifics." Poult Sci **92**(10): 2567-2575.
- Jones, R. B. (1996). "Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives." World's Poultry Science Journal **52**(02): 131-174.
- Jones, R. B. and P. M. Hocking (1999). "Genetic Selection for Poultry Behaviour: Big Bad Wolf or Friend in Need?" Animal Welfare **8**: 343-359.
- Mench, J. A. (1988). "The development of aggressive behavior in male broiler chicks: A comparison with laying-type males and the effects of feed restriction." Applied Animal Behaviour Science **21**(3): 233-242.
- Mendl, M. and R. C. Newberry (1997). Social conditions. Animal Welfare. M. C. Appleby and B. O. Hughes. Wallingford, UK, CAB International: 191-201.

- Millman, S. T., I. J. Duncan and T. M. Widowski (2000). "Male broiler breeder fowl display high levels of aggression toward females." Poult Sci **79**(9): 1233-1241.
- Newberry, R. C. (2003). Cannibalism. Welfare of the Laying Hen. G. C. Perry. Wallingford, U. K., CABI Publishing: 239–258.
- Noble, R. (1973). "Hormonal control of receptivity in female quail (*Coturnix coturnix japonica*)." Hormones and Behavior **4**(1–2): 61-72.
- Ophir, A. G. and B. G. Galef Jr (2003). "Female Japanese quail that "eavesdrop" on fighting males prefer losers to winners." Animal Behaviour **66**(2): 399-407.
- Ophir, A. G. and B. G. Galef Jr (2004). "Sexual experience can affect use of public information in mate choice." Animal Behaviour **68**(5): 1221-1227.
- Ophir, A. G., K. N. Persaud and J. B. G. Galef (2005). "Avoidance of Relatively Aggressive Male Japanese Quail (*Coturnix japonica*) by Sexually Experienced Conspecific Females." Journal of Comparative Psychology **119**(1): 3-7.
- Ophir, A. G., K. N. Persaud and B. G. Galef Jr (2005). "Avoidance of relatively aggressive male Japanese quail (*Coturnix japonica*) by sexually experienced conspecific females." Journal of Comparative Psychology **119**(1): 3-7.
- Pellegrini, S., R. H. Marin and D. A. Guzman (2015). "An individually fitted physical barrier device as a tool to restrict the birds' spatial access: can their use alter behavioral responses?" Poult Sci **94**(10): 2315-2321.
- Persaud, K. N. and B. G. Galef Jr (2003). "Female Japanese quail aggregate to avoid sexual harassment by conspecific males: A possible cause of conspecific cueing." Animal Behaviour **65**(1): 89-94.
- Persaud, K. N. and B. G. Galef Jr (2004). "Fertilized female quail avoid conspecific males: Female tactics when potential benefits of new sexual encounters are reduced." Animal Behaviour **68**(6): 1411-1416.
- Persaud, K. N. and B. G. Galef Jr (2005). "Eggs of a female Japanese quail are more likely to be fertilized by a male that she prefers." Journal of Comparative Psychology **119**(3): 251-256.
- Persaud, K. N. and B. G. Galef Jr (2005). "Female Japanese quail (*Coturnix japonica*) mated with males that harassed them are unlikely to lay fertilized eggs." Journal of Comparative Psychology **119**(4): 440-446.
- Pizzari, T., D. P. Froman and T. R. Birkhead (2002). "Pre- and post-insemination episodes of sexual selection in the fowl, *Gallus g. domesticus*." Heredity (Edinb) **88**(2): 112-116.
- Qvarnström, A. and E. Forsgren (1998). "Should females prefer dominant males?" Trends in Ecology & Evolution **13**(12): 498-501.
- Ramenofsky, M (1984). "Agonistic behaviour and endogenous plasma hormones in male japanese quail". Animal Behaviour **32**: 698-708.
- Rodenburg, T. B. and P. Koene (2007). "The impact of group size on damaging behaviours, aggression, fear and stress in farm animals." Applied Animal Behaviour Science **103**(3-4): 205-214.
- Rutkowska, J., N. J. Place, S. Vincent and E. Adkins-Regan (2011). "Adrenocortical response to mating, social interaction and restraint in the female Japanese quail." Physiology & Behavior **104**(5): 1037-1040.
- Satterlee, D. G., G. G. Cadd and R. B. Jones (2000). "Developmental instability in japanese quail genetically selected for contrasting adrenocortical responsiveness." Poult Sci **79**(12): 1710-1714.
- Satterlee, D. G. and E. D. Roberts (1990). "The influence of stress treatment on femur cortical bone porosity and medullary bone status in Japanese quail selected for high and

low blood corticosterone response to stress." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology **95**(3): 401-405.

Schlinger, B. A. and G. V. Callard (1990). "Aggressive behavior in birds: An experimental model for studies of brain-steroid interactions." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology **97**(3): 307–316.

Schlinger, B. A., B. Palter and G. V. Callard (1987). "A method to quantify aggressiveness in Japanese quail (*Coturnix c. japonica*)." Physiology & Behavior **40**(3): 343-348.

Shanaway, M. M. (1994). Quail production systems. Rome, FAO.

Statistix (2008). Analytical Software Co. 9. Tallahassee, FL.

Swanson, J. C. (1995). "Farm animal well-being and intensive production systems." J Anim Sci **73**(9): 2744-2751.

Trivers, R. L. (1972). Parental investment and sexual selection. . Sexual selection and the descent of man. G. B. Campbell. Chicago: 136-179.

Wechsler, B. and I. Schmid (1998). "Aggressive pecking by males in breeding groups of Japanese quail (*Coturnix japonica*)." Br Poult Sci **39**(3): 333-339.

Welfare_Quality®_consortium (2009). Welfare Quality® Assessment Protocol for Poultry. Lelystad, The Netherlands: 119.

ANEXO I

RESUMEN

Existe una creciente evidencia de un aumento en la agresividad de los machos progenitores de la raza de pollo parrillero hacia las hembras. Una situación similar se observa en codornices japonesas mantenidas en jaulas en grupos mixtos para la obtención de huevos fértiles, donde los picoteos agresivos dirigidos a la cabeza de las hembras son un importante problema para el bienestar de los animales en este tipo de condición de cría. En este trabajo se propuso estudiar si en la especie *Coturnix coturnix japonica*, la agresividad registrada de machos hacia hembras con las que fueron criados se mantiene cuando estos machos interaccionan socialmente con machos desconocidos en pruebas de 10 minutos de duración. Para lograr este objetivo se clasificaron machos adultos en función del número de picotazos registrados hacia la hembra con la que conviven. Luego estos machos clasificados agresivos (MA) y no agresivos (MN) se alojaron de a pares (1 MA y 1 MN) en un aparato de prueba para evaluar su interacción social en presencia de hembras como audiencia, resultando 13 de los machos clasificados como agresivos ganadores de los 15 encuentros totales. Esto sugiere que el método de clasificación de machos según a agresividad hacia sus hembras tiene cierto poder predictivo sobre la agresividad de ese mismo macho hacia otros machos desconocidos, además se encontró que el número de picotazos dados a la hembra y su estado de plumaje medidos ambos en la jaula de cría están positivamente correlacionados. Un método para clasificar los machos de acuerdo a su agresividad ya sea por la observación de su comportamiento hacia las hembras en las jaulas de cría, o aún más sencillo y rápido, por el estado de plumaje de la hembra con él alojada; sería ventajoso sobre otros métodos conocidos, además de evitar el contacto real entre machos impidiendo así heridas potenciales en las aves y “el efecto ganador/perdedor” con sus cambios hormonales y comportamentales asociados.

Introducción

Existe una creciente evidencia de un aumento en la agresividad de los machos progenitores de la raza de pollo parrillero hacia las hembras (Chase 1982, Mendl y Newberry 1997). Este tipo de conducta (que la presentan solo ciertos machos) se asocia con la frustración resultante de la fuerte restricción de alimento a la que son sometidas estas aves durante su cría, aunque también existe cierta evidencia de que este problema

de agresión puede ser de base genética en sus orígenes (Mendl y Newberry 1997). Una situación similar se observa en codornices japonesas (Wechsler y Schmid 1998) mantenidas en jaulas en grupos mixtos para la obtención de huevos fértiles, donde los picoteos agresivos dirigidos a la cabeza de las hembras son un importante problema para el bienestar de los animales en este tipo de condición de cría (Shanaway 1994).

Existen diversos métodos para cuantificar agresividad como puede ser clasificar los animales en función del orden de dominancia y subordinación que establece con conspecíficos (Schlinger y Callard 1990) o simplemente cuantificar la actividad locomotora y los picotazos que un animal da contra una pared de acrílico en respuesta a otro macho colocado del otro lado como estímulo visual (Schlinger, Palter et al. 1987).

Por otro lado, existen protocolos en los que se detallan las distintas metodologías que se utilizan para evaluar el estado de bienestar de un animal como el sugerido por *Welfare Quality® Consortium* (2009). En estos protocolos se realizan valoraciones del estado de plumaje, presencia de lesiones, dermatitis plantar, entre otras, luego de acuerdo al estado observado se coloca una puntuación (tabulada) para cada uno de los ítems para luego obtener una valoración final para cada individuo (*score*).

Considerando lo expuesto en los párrafos anteriores en el presente trabajo se propuso evaluar si en animales sexualmente maduros de la especie *Coturnix coturnix japonica*, la agresividad registrada de los machos hacia las hembras con las que fueron alojados, forma parte de un patrón comportamental que se repite también si estos machos se encuentran con otros machos desconocidos. Para evaluar el comportamiento social entre machos se eligió en una prueba de interacción social en presencia de hembras de 10 minutos de duración.

Materiales y Métodos

Evaluación de la agresividad del macho hacia la hembra con la que fue alojado como su pareja reproductiva durante período de cría.

Del mismo procedimientos descrito en la Fase I de este trabajo de Tesina, se obtuvieron machos clasificados de acuerdo a los niveles de agresividad (Nº de picotazos del macho hacia la hembra) que se registraron mediante muestreo continuo del animal focal (macho) (Altmann 1974) en su jaula de cría. Se obtuvieron así machos

clasificados como No Agresivos (MN), de agresividad intermedia (MI) y machos Agresivos (MA).

Como ya se describió anteriormente, se realizó también la valoración del estado de bienestar de las hembras, mediante el protocolo propuesto por el WQC (Welfare_Quality®_consortium 2009) considerando al estado del plumaje como variables de diagnóstico principal, esta valoración se realizó con el fin de estudiar si existe una correlación entre la variable n° de picotazos de machos a hembras (variable clasificatoria) y el estado de plumaje de las hembras, ya que consideramos que de existir dicha correlación, esta podría tener implicancias practicas importantes.

Interacción macho – macho:

A los 117 días de edad, se evaluaron las interacciones sociales entre machos en pruebas de 10 minutos de duración.

Con el objetivo de determinar cómo son las interacciones entre machos según fueron clasificados por el comportamiento con sus hembras durante el período de cría, se enfrentaron machos MA con machos MN con hembras HI (que convivieron con machos de agresividad intermedia), desconocidas de ambos machos, como audiencia del enfrentamiento.

El aparato de prueba consistió en una caja de melamina blanca (de 90 x 43 x 40 cm; ancho, largo, alto), con agua y alimento *ad libitum*, la caja se dividió en 3 compartimientos mediante dos divisiones de reja (sin orificios), en los compartimientos de los extremos se alojó a cada hembra, mientras que en el compartimiento central se alojaron los 2 machos (Figura A):

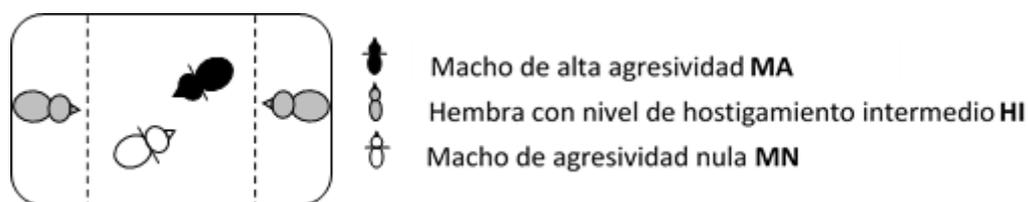


Figura A: Aparato de prueba para evaluar interacciones sociales entre dos machos clasificados de acuerdo a su agresividad hacia hembras. En los extremos, alojadas detrás de una reja, se alojaron como audiencia a las hembras que convivieron con machos de agresividad intermedia.

Luego de alojar las hembras, se dio por iniciada la prueba al colocar a ambos machos en la zona central del aparato de prueba, mediante el uso de una cámara de vídeo colocada sobre el aparato de prueba (2 m de altura), el comportamiento de las aves fue registrado en video durante 10 min usando el programa informático ANY-

maze (2016). Esta disposición aseguró que el experimentador estaba completamente oculto de la vista de las aves durante la prueba. Para resguardar la integridad física de los machos evaluados, si durante el encuentro una de las aves recibió más de 5 picotazos consecutivos y / o mostró un comportamiento claro de escape (recuperación), y / o mostró algún signo de daño físico, el encuentro fue inmediatamente interrumpido.

Se realizaron un total de 15 interacciones agonistas donde participaron un total de de 30 machos. Estas 15 interacciones fueron observadas por 15 pares de hembras (cada par compuesto por hembras HI). Para definir al macho ganador y perdedor de cada encuentro agonista se registró durante cada encuentro:

- el n° de atrapes entre machos:
- el n° de montas entre machos:
- el n° de picotazos entre machos:
- el n° de persecuciones entre machos:
- el n° de huidas

El registro comportamental se realizó mediante el software especializado para análisis de comportamiento ANY-maze (2016), el cual posee una interfaz sencilla para la realización de etogramas a partir de la reproducción de las grabaciones de video.

Análisis estadístico:

Los datos obtenidos del encuentro entre machos fueron analizados usando Modelos Lineales Generalizados Mixtos. Se avalúo si existen diferencias entre los MAs y MNs para los comportamientos agonistas registrados en la interacción social entre machos (donde interactuaron socialmente pares de machos representados por 1 individuo de cada categoría). El orden en que los pares de machos fueron evaluados se incluyó en el análisis como factor aleatorio. Un valor de $P < 0,05$ fue considerado como representante de diferencias estadísticamente significativas.

Las proporciones de aves clasificadas como Agresivas y No Agresivas que resultaron ganadoras de los encuentros entre pares fueron comparadas utilizando Test de Proporciones (Statistix 2008).

Resultados

Cuando se analizaron los resultados de la evaluación de la agresividad del macho hacia la hembra con la que fue alojado como su pareja reproductiva durante el período

de cría, se encontró que existe correlación positiva estadísticamente significativa entre el N° de picotazos de machos hacia hembras y el estado de plumaje de dichas hembras ($\rho = 0,38$; $P = 0,003$). Esto sugiere que el estado de plumaje de la hembra tendría cierto poder predictivo sobre la agresividad del macho con el que esa hembra está alojada al momento de la evaluación.

Se realizaron 15 encuentros (de 1 MA y 1 MN cada uno), con un total de 30 machos, mitad de ellos clasificados como MA y la otra mitad como MN durante la etapa de cría. Solo en uno de los encuentros no se pudo caracterizar a los machos como ganadores o perdedores de la interacción ya que no se registró ningún tipo de conducta agonista entre ellos. Del total de los restantes 14 machos clasificados como Agresivos respecto a su hembra, 13 resultaron ganadores del encuentro con machos No agresivos, y solo uno resultó perdedor, encontrándose una relación estadísticamente significativa para estas proporciones entre los MA vs MN ($Z = 4,39$; $P < 0,00001$).

Para los machos clasificados como Agresivos el n° de picotazos, atrapes, montas y persecuciones registrados fueron significativamente superiores con respecto a los machos clasificados como No agresivos. Se registraron además un mayor número de huidas durante la interacción macho-macho para los MN que para los MA ($P = 0,0001$) (**Tabla A**).

Si bien los resultados obtenidos en la sección III de este trabajo de Tesina para las interacciones sociales entre machos de agresividad intermedia (MI) no son estadísticamente comparables con los de este anexo (la categoría de las hembras que participaron como audiencia no fue la misma), se incluyen a modo informativo en la Tabla B los valores de Media \pm E.E. para las variables registradas para la interacción macho-macho entre dichos MI. Se observan en dicha tabla valores de Media intermedios (para todas las variables evaluadas) a los registrados entre los MA y MN.

Tabla A: Variables comportamentales registradas en interacción entre machos agresivos y no agresivos en presencia de hembras en una prueba de 10 minutos de duración (Media \pm E.E.).

VARIABLES	CATEGORÍA MACHO		Chi square / df (1)	VALOR - P
	MACHO AGRESIVO	MACHO NO AGRESIVO		
N° PICOTAZOS	0,45 \pm 0,31	0,03 \pm 0,03	42,84	<0.0001
N° ATRAPES	0,03 \pm 0,00006	0,01 \pm 0,00001	18,36	<0.0001
N° MONTAS	0,12 \pm 0,16	0,04 \pm 0,05	5,02	0.025
N° PERSECUCIONES	0,004 \pm 0,01	0,0001 \pm 0,0003	42,10	<0.0001
N° HUIDAS	0,08 \pm 0,08	0,33 \pm 0,31	18,34	<0.0001

Tabla B: Valores para las variables comportamentales registradas en la fase III de este trabajo para la interacción entre pares de machos de agresividad intermedia en presencia de hembras en una prueba de 10 minutos de duración (Media \pm E.E.).

VARIABLES	CATEGORÍA MACHO
	MACHO DE AGRESIVIDAD INTERMEDIA n=30
N° PICOTAZOS	0,21 \pm 0,13
N° ATRAPES	0,26 \pm 0,17
N° MONTAS	0,09 \pm 0,07
N° PERSECUCIONES	0,02 \pm 0,00004
N° HUIDAS	0,41 \pm 0,30

Discusión

Los machos que fueron clasificados como agresivos frente a las hembras con las que fueron criados, también resultaron ser más agresivos (ganadores) de encuentros posteriores con otros machos. Considerando además que existe cierto grado de correlación entre la variable n° de picotazos de machos a hembras (variable clasificatoria) y el estado de plumaje de dichas hembras, los resultados de este anexo en su conjunto sugieren que el estado de plumaje de las hembras con las que viven los machos (Welfare Quality Protocol, 2009) podrían utilizarse como un método de clasificación de agresividad para esta especie de aves.

Esta nueva metodología tendría ventajas sobre las anteriormente descritas, como por ejemplo: a) evitar el enfrentamiento entre machos (para valorar si resulta ganador o perdedor), b) se podrían identificar rápidamente a los machos agresivos mediante valoración de bienestar de la hembra, c) se evaluaría a los machos por variable relacionadas al contacto directo entre conespecíficos vs. otro método propuesto por Schlinger (1987) donde se evalúa la agresividad de los machos por las interacciones entre ellos a través de una pared de acrílico.

Bibliografía:

- Altmann, J. (1974). "Observational study of behavior: sampling methods." Behaviour **49**: 227-267.
- ANY-maze (2016). Stoelting, Co. Wood Dale, IL.
- Chase, I. D. (1982). "Dynamics of Hierarchy Formation: The Sequential Development of Dominance Relationships." Behaviour **80**: 218-240.
- Mendl, M. and R. C. Newberry (1997). Social conditions. Animal Welfare. M. C. Appleby and B. O. Hughes. Wallingford, UK, CAB International: 191-201.
- Schlinger, B. A. and G. V. Callard (1990). "Aggressive behavior in birds: An experimental model for studies of brain-steroid interactions." Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology **97**(3): 307-316.
- Schlinger, B. A., B. Palter and G. V. Callard (1987). "A method to quantify aggressiveness in Japanese quail (*Coturnix c. japonica*)." Physiology & Behavior **40**(3): 343-348.
- Shanaway, M. M. (1994). Quail production systems. Rome, FAO.
- Statistix (2008). Analytical Software Co. 9. Tallahassee, FL.
- Wechsler, B. and I. Schmid (1998). "Aggressive pecking by males in breeding groups of Japanese quail (*Coturnix japonica*)." Br Poult Sci **39**(3): 333-339.
- Welfare_Quality®_consortium (2009). Welfare Quality® Assessment Protocol for Poultry. Lelystad, The Netherlands: 119.