

El aislamiento social después del destete altera el desarrollo de los índices conductuales de maduración sexual y produce déficits en la conducta sexual de ratas machos

Post-weaning social isolation alters the development of behavioral indices of sexual maturation and leads to deficits in the sexual behavior of male rats

Marisela Hernández-González[✉], Miguel Ángel Guevara, Mayra Liliana Ramírez-Rentería y Enrique Hernández-Arteaga

Instituto de Neurociencias, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Francisco de Quevedo 180, Colonia Arcos Vallarta, Guadalajara 44130, Jalisco, México.

✉ mariselh@cencar.udg.mx

Citar

Resumen

En ratas machos, el acicalamiento genital (AG) y las erecciones peneanas espontáneas (EPE) se incrementan sustancialmente en el periodo alrededor de la pubertad y muestran un patrón de desarrollo característico en este periodo. Estos índices de maduración sexual, que desempeñan un papel importante en la preparación de la rata macho para la reproducción, son influidas por diferentes factores, tales como las drogas, baja nutrición, cuidado maternal e interacción social. Si se considera que el aislamiento social afecta la conducta sexual, el objetivo de este trabajo fue caracterizar el patrón de desarrollo del AG, EPE y conducta sexual en ratas machos que fueron hospedadas individualmente del día 22 al 77 postnatal. Aunque los valores de frecuencia y duración del AG y EPE presentaron un aumento gradual conforme los sujetos se acercaban a la pubertad (40 días de edad), la privación social alteró la relación de la ocurrencia de AG y EPE y la eficacia de la conducta sexual. Los sujetos

hospedados individualmente después del destete no mostraron una correlación directa entre una mayor frecuencia y duración de AG y EPE con una mejora ejecución de la conducta sexual, como se reporta que ocurre en ratas macho socialmente hospedados. Estos resultados esclarecen el papel de la experiencia social post-destete en el desarrollo de los índices conductuales de maduración sexual y sugieren un importante efecto a largo término del aislamiento sobre la ejecución de la conducta sexual en la rata macho.

Palabras clave: aislamiento social, acicalamiento genital, erecciones peneanas, conducta sexual, desarrollo, ratas.

Abstract

In male rats, genital grooming (GG) and spontaneous penile erections (SPE) increase substantially between weaning and the peripubertal period, and show a characteristic development pattern around the time of puberty. These indices of sexual maturation, which play

an important role in rearing adult male rats for reproduction, are influenced by several factors, such as drugs, undernutrition, maternal care, and social interaction. Considering that post-weaning social isolation affects sexual behavior, the aim of this work was to characterize the development pattern of GG, SPE and sexual behavior in male rats that were housed individually from 22-to-77 days of age. Although the values for the frequency and duration of GG and SPE showed a gradual increase as puberty approached (40 days old), social deprivation altered the relation of the occurrence of GG and SPE and the efficacy of sexual be-

havior. The subjects housed individually after post-weaning did not show a direct correlation between a higher frequency and duration of GG and SPE and improved performance of sexual behavior, as has been reported to occur in socially-housed male rats. These findings highlight the role of post-weaning social experience in the development of behavioral indices of sexual maturation, and suggest an important long-term effect on the performance of sexual behavior in the male rat.

Keywords: Social isolation; Genital grooming; Penile erections; Sexual behavior; Development; Rat.

Introducción

La interacción social, sobre todo durante la pubertad, es esencial para la expresión y comprensión de muchas señales de comunicación (Meaney & Stewart 1981; Takahashi 1986). El aislamiento, en contraste, provoca diversos cambios conductuales y fisiológicos en diferentes especies, incluyendo los humanos (Mason 1960; Novak 1979; Christie & Johnsen 1983; Hofer 1987; Knowles *et al.* 1989; Ikemoto & Panksepp 1992; Wongwitdecha & Marsden 1996). Diferentes estudios han descrito que los efectos del aislamiento dependen del periodo en que esta privación ocurra. En este sentido, la pubertad es uno de los periodos más sensibles en los mamíferos. Este se caracteriza por el inicio de la maduración sexual en el eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (HHG), y por lo tanto, por cambios interactivos y rápidos a nivel neural, endocrino y morfológico (Ojeda 1994).

Después de periodos cortos de aislamiento social post-destete, las ratas muestran cambios a largo plazo, tales como disminución de la tem-

Introduction

Social interaction, especially during puberty, is essential for the expression and comprehension of many communications signals (Meaney & Stewart 1981; Takahashi 1986). Isolation, in contrast, results in diverse behavioral and physiological changes in different species, including humans (Mason 1960; Novak 1979; Christie & Johnsen 1983; Hofer 1987; Knowles *et al.* 1989; Ikemoto & Panksepp 1992; Wongwitdecha & Marsden 1996). Studies have described that the effects of isolation depend on the period in which this social deprivation takes place. In this respect, puberty is one of the most sensitive periods in mammals. It is characterized by the onset of sexual maturation in the hypothalamic-hypophyseal-gonadal (HHG) system and, hence, by rapid interactive neural, endocrine, and morphologic changes (Ojeda 1994).

After short periods of post-weaning social isolation, rats show long-lasting changes including decreases in body temperature, sleep, and growth-hormone secretion along with increase

peratura corporal, sueño y secreción de la hormona de crecimiento, junto con incremento en activación cerebral, reactividad conductual y reducción del volumen y tamaño de neuronas en algunas estructuras cerebrales, como la amígdala (Hennessy 1997; Panksepp *et al.* 1997; Cooke *et al.* 2000). El aislamiento social durante el desarrollo también afecta las funciones reproductivas, induciendo una conducta copulatoria deficiente (Gerall *et al.* 1967; Bakker *et al.* 1995; Brotto *et al.* 1998; Cooke *et al.* 2000; Kerckmar *et al.* 2014), síntesis anormal de esteroides gonadales (Fulgheri *et al.* 1975; Lupo *et al.* 1978; Amistislavskaya *et al.* 2013) y reducción de erecciones sin contacto (Cooke *et al.* 2000).

El auto-acicalamiento es un acto motor complejo, que las ratas ejecutan desde la infancia y se continúa a lo largo de la vida adulta. Durante el curso del periodo predestete, la extensión de la superficie que es acicalada aumenta de modo gradual, al añadir regiones corporales en una progresión más o menos cefalocaudal. El acicalamiento genital aparece tarde en la ontogenia, ocurre con poca frecuencia entre animales jóvenes y por tanto, es improbable que ejecuten secuencias completas de acicalamiento (Sachs 1988; Sachs *et al.* 1988).

Se ha sugerido que el AG puede producir efectos a largo plazo en el desarrollo. El auto-acicalamiento genital se asocia con el crecimiento puberal de la próstata y vesículas seminales en ratas juveniles, así las ratas machos promueven su preparación para la reproducción mediante la autoestimulación por acicalamiento genital (Moore & Rogers 1984). Las ratas machos que reciben menos lamido ano-genital maternal, desarrollan vesículas de menor tamaño y copulan menos robustamente que otros machos (Moore 1984; 1992). Así, el nivel de estimulación ano-genital que reciben durante su periodo de desarrollo puede tener un papel importante en la conducta copulatoria de la rata macho adulta (Moore 1984; 1988; 1992).

El auto-acicalamiento genital en ratas ocurre en conjunto con erecciones penianas, movimientos pélvicos y emisión seminal fuera del contexto de la copula (Sachs *et al.* 1988). Estas erecciones penianas causadas en ratas aisladas

in brain arousal, behavioral reactivity, and reduction of the volume and size of neurons in some brain structures, such as the amygdala (Hennessy 1997; Panksepp *et al.* 1997; Cooke *et al.* 2000). Social isolation during development also affects reproductive functions, inducing deficient copulatory behavior (Gerall *et al.* 1967; Bakker *et al.* 1995; Brotto *et al.* 1998; Cooke *et al.* 2000; Kerckmar *et al.* 2014), abnormal gonadal steroid synthesis (Fulgheri *et al.* 1975; Lupo *et al.* 1978; Amistislavskaya *et al.* 2013) and reduced induction of noncontact erections (Cooke *et al.* 2000).

Although several studies indicate that post-weaning social isolation has negative consequences on the adult sexual behavior, there has been relatively little investigation of the effects of social isolation on the developmental pattern of behavioral indices of sexual maturation, such as the genital grooming (GG) and spontaneous penile erection (SPE).

Self-grooming is a complex motor act, which in rats is performed initially by infants and is continued throughout adult life. During the course of preweaning period, the extent of the body surface covered by grooming gradually enlarges, with body regions added in a roughly cephalocaudal progression. Genital-grooming appear relatively late in ontogeny, and this occurs with low frequency among young animals, which are unlikely to complete full grooming sequences (Sachs 1988; Sachs *et al.* 1988).

It has been suggested that GG may produce long-term effects in the development. Genital self-grooming has been linked to the pubertal growth of prostate glands and seminal vesicles in juvenile rats so that male rats promote their readiness for reproduction by self-stimulation genital grooming (Moore & Rogers 1984). Males rats that receive less maternal anogenital licking develop lighter-weight seminal vesicles and copulate less robustly than other males (Moore 1984; 1992). Thus, the level of anogenital stimulation that receives during their developing period may have an important role on the copulatory behavior of the adult male rat (Moore 1984; 1988; 1992).

es decir, cuando no hay hembras presentes, son llamadas también “erecciones peneanas espontáneas” (EPE), las cuales se caracterizan por la extensión del glande por fuera del prepucio, y el acicalamiento genital coincide con o sigue rápidamente a la erección (Meisel & Sachs 1994). En ocasiones ligeros movimientos de cadera pueden también acompañar la erección, pero este patrón motor completo tiene poca similitud con aquel que ocurre durante la copula.

Se ha descrito que el AG muestra un patrón de desarrollo característico alrededor de la pubertad, al incrementarse de manera substancial entre el destete y la post-pubertad temprana (Moore & Rogers 1984) alcanzando su más alta manifestación cerca de los días 35–47 postnatal, es decir en el periodo peri-puberal de los machos (Hernández-González 2000). Las EPE muestran un patrón de desarrollo característico alrededor de la pubertad, incrementándose alrededor del día 43 de edad, y alcanzando su más alta manifestación cerca del día 47 post-natal (Hernández-González 2000).

Se sabe que el contexto social tiene un importante efecto sobre la manifestación del acicalamiento y las erecciones peneanas (Meisel *et al.* 1984; Moore 1986; Holmes & Sachs 1992), así, aunque el acicalamiento es un evento relativamente frecuente en las actividades diarias de la rata (Bolles 1960), es más probable observarlo cuando las ratas son hospedadas individualmente en un ambiente novedoso (Colbern *et al.* 1978; Jolles *et al.* 1979a). Sin embargo, en la rata macho este incremento es restringido solo al acicalamiento genital, pero no a otras partes del cuerpo (Moore 1986). Por otro lado, las EPEs muestran una muy baja incidencia en contextos no copulatorios: una ocurrencia del 30 % y una frecuencia promedio de 0.3 erecciones/h fueron reportadas por Bertolini *et al.* (1978) en experimentos donde los animales adultos fueron observados en aislamiento durante dos horas.

Si se considera el importante papel que se asigna a la interacción social y al contexto sobre la expresión de diferentes conductas, el objetivo de este estudio fue caracterizar el patrón de desarrollo del AG, EPE y conducta sexual en ratas machos adultos que fueron privadas de la opor-

Genital self-grooming in rats also occurs in conjunction with penile erection, pelvic thrusts and seminal emission outside the context of copulation (Sachs *et al.* 1988). This penile erections caused in isolated rats i.e, with no female present are also called “spontaneous penile erection” (SPE) which are usually characterized by extension of the engorged glans beyond the sheath, and genital grooming coincides with or quickly follows erection (Meisel & Sachs 1994). Occasionally slight hip movements may also accompany erection, but these movements and the whole motor pattern bear little similarity to those occurring during copulation.

It has been described that GG show a characteristic development pattern around the puberty, increasing substantially between weaning and early post-puberty (Moore & Rogers 1984) and reaching their highest manifestation about 35–47 days postnatal, i.e., in the peri-pubertal period of males (Hernández-González 2000). The SPE also shows a characteristic development pattern around puberty, increasing substantially between 43 days of age and reaching highest manifestation about 47 days of age (Hernández-González 2000).

It is known that social context have an important effect on the manifestation of grooming and penile erections (Meisel *et al.* 1984; Moore 1986; Holmes & Sachs 1992), thus, although grooming is a relatively frequent event in the rat’s daily activities (Bolles 1960), it is more reliably observed when rats are placed alone into a novel environment (Colbern *et al.* 1978; Jolles *et al.* 1979a). However, in the male this increase is restricted only to genital grooming, but not other body regions (Moore 1986). On the other hand, the SPE show a very low incidence in noncopulatory contexts: an occurrence of 30 % and an average frequency of 0.3 erections/h were reported by Bertolini *et al.* (1978) from experiments in which the adult animals were observed alone during two hours.

Considering the important role that has been assigned to social interaction and context on the expression of different behaviors, the aim of this study was to characterize the developmental pattern of GG, SPE and sexual behavior in adult

tunidad de interactuar con sus compañeros durante la pubertad.

Método

Sujetos

Se sometieron diez ratas macho y hembras de la cepa Wistar. Los sujetos se mantuvieron en un ciclo luz/oscuridad de 12 × 12 h y a 22–23 °C, con comida y agua *ad libitum* durante la gestación y la lactancia de las crías. Todas las ratas pre-púberes de este estudio (n = 16) fueron progenie de los animales mencionados. El destete se realizó el día 22 (día de nacimiento = 1), después de lo cual los animales fueron sexados y mantenidos en aislamiento social (hospedados individualmente) en cajas de plástico (32 × 47 × 20 cm de policarbonato) con cama de aserrín y tapa de acero. Los sujetos se mantuvieron en una sala de pruebas durante todo el experimento bajo temperatura ambiente de 22–23 °C, de tal manera que los animales no fueran perturbados durante la observación. Para minimizar la comunicación visual, olfativa y auditiva entre los sujetos, entre cada caja habitación se mantuvo al menos 1 m de distancia.

Procedimiento

La presencia del acicalamiento genital y erecciones peneanas se registró desde los 25 hasta los 47 días de edad, cada tercer día, de las 18:00 a las 20:00 h. Los datos conductuales se registraron en tiempo real durante dos horas diarias por los experimentadores, quienes permanecieron sentados a 0.5 m de cada caja habitación en la sala de pruebas. El acicalamiento genital se registró cada vez que el sujeto se lamía los testículos o el pene. Las erecciones peneanas fueron identificadas cuando el sujeto realizaba una serie de movimientos pélvicos seguidos por la adopción de una postura sentada que permitió la visualización del glande por fuera del prepucio, seguido de un acicalamiento genital sujetando su pene con las patas delanteras. Los parámetros evaluados de cada conducta fueron la frecuencia y la duración.

Las pruebas de conducta sexual se realizaron entre las 17:00 y 21:00 h cada tercer día a partir del día 42 hasta el 77 de edad. Cada macho

male rats that were deprived of the opportunity to interact with their peers during the puberty.

Method

Subjects

Ten males and females Wistar rats were used. Subjects were maintained under a 12/12 h light/dark cycle at 22–23 °C, with food and water *ad libitum* throughout gestation and lactation of the pups. All prepubescent rats used in this study (n = 16) were progeny of these animals. Weaned occurred on days 22 (day of birth = 1), after which the animals were sexed and maintained in social isolation (individually housed) in plastic cages (32 × 47 × 20 cm polycarbonate cage) with sawdust bedding and wire top. The subjects were kept in a testing room during all experiment under room temperature of 22–23 °C, thus, the animals were mildly disturbed at the time of observation. To minimize the visual, olfactory and auditory communication between the subjects, at least a distance of 1 m was maintained between each home cage.

Procedure

The occurrence of genital grooming and penile erections was observed from 25 to 47 days of age on every second day from 18:00 to 20:00 h. Behavioral data were recorded in real time during two hours daily by the experimenters who remained seated at 0.5 m from the test cage in the testing room. Genital grooming was recorded when each male self-licking their testicles or penis. An erection was identified when pelvic thrusts were followed by seated upright stance, the emergence of the engorged glans penis and distal penile shaft with penile grooming. Frequency and duration were recorded for each bout of each behavior.

Sexual behavior tests were performed between 17:00 and 21:00 hours on every second day, from 42 to 77 days of age. After each male was placed in the test cage, 5-min and then they were permitted for adaptation before the introduction of a receptive female. Stimulus females of the same strain were rendered sexually receptive by subcutaneous injection of 5 µg of estradiol benzoate 36 h before the sexual test and then with 500 µg

permaneció por 5 min en una caja de acrílico para su adaptación antes de la introducción de la hembra receptiva. Las hembras estímulo de la misma cepa fueron inducidas a estar sexualmente receptivas mediante la inyección subcutánea de 5 µg/0.05 ml de benzoato de estradiol 36 h antes de la prueba sexual, y 500 µg de progesterona 3 h antes de la prueba. Se midieron las siguientes variables del comportamiento: a) monta (M), monta con movimientos pélvicos sin penetración vaginal; b) latencia de monta (LM), el tiempo desde la entrada de la hembra receptiva a la caja de observación a la primera monta; c) intromisión (I), monta con patrones conductuales de penetración vaginal; d) latencia de intromisión (LI) el tiempo desde la entrada de la hembra receptiva en la caja de observación a la primera intromisión; e) eyaculación (E), monta con patrones conductuales de expulsión seminal; f) latencia de eyaculación (LE), tiempo desde la primera intromisión hasta el patrón de eyaculación; g) intervalo post-eyaculatorio (IPE), tiempo desde el patrón eyaculatorio a la primera intromisión de la segunda serie de copulación y; h) hit rate (HR) número de I/(número de M + número de I). Cada prueba se dio por terminada después de 1) un máximo de 15 minutos sin monta o intromisión; 2) un máximo de 30 minutos después de la primera intromisión sin eyaculación; 3) la primera intromisión después de la eyaculación inicial; o 4) un máximo de 15 minutos sin intromisión después de la eyaculación.

Análisis estadístico

Para comparar los parámetros de frecuencia y duración del AG y las EPE a través de los días de registro, los datos totales de las 2 h de registro correspondientes a cada tercer día (25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 y 47) fueron comparados con una prueba estadística de Friedman seguida por una prueba *post hoc* de Wilcoxon.

Además, se calculó la mediana de las medias individuales de frecuencia y duración del AG a partir de los primeros tres días de registro (25, 27 y 29 días de edad) y los tres últimos días de registro (43, 45 y 47 días de edad); de manera similar se obtuvo la mediana de las medias individuales de frecuencia y duración de las EPE de los dos primeros días (37 y 39 días de edad) y de los dos últimos días en que se observaron las EPE

of progesterone 3 h before the test. The following behavioral variables were measured: a) mount (M), mount with pelvic thrusting without vaginal penetration; b) mount latency (ML), time from the entrance of the receptive female into the observation cage to the first mount; c) intromission (I), mount with behavioral signs of vaginal penetration; d) intromission latency (IL), time from the entrance of the female into the observation cage to the first intromission; e) ejaculation (E), mount with behavioral signs of seminal expulsion; f) ejaculation latency (EL), time from the first intromission to the ejaculatory pattern, g) postejaculatory interval (PEI), time from ejaculatory pattern to the first intromission of the second copulatory serie, and the intromission ratio (IR) number of I/(number of M + number of I). Each test was ended after either 1) a maximum of 15 min without mount or intromission; 2) a maximum of 30 min after the first intromission without ejaculation; 3) the first intromission following the initial ejaculation; or 4) a maximum of 15 min without intromission after ejaculation.

Statistics

To compare the frequency and duration of GG and SPE throughout recording days, the total data of 2 h corresponding to each recording days (25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45 and 47) were compared with a Friedman test followed by the Wilcoxon *post hoc* test.

In addition, median of individual means of frequency and duration of GG were calculated from the three first (25, 27 and 29 days of age) and three last (43, 45 and 47 days of age) days of testing; similarly, median of individual means of frequency and duration of SPE were calculated from the two first days in which SPE were observed (37 and 39 days of age) and from the two last days of testing (45 and 47 days of age). These initial vs. final values of frequency and duration of GG and SPE were compared by using a Wilcoxon test.

The mean age at the beginning of the copulatory responses (IL, EL, PEI, and IR) of subjects, categorized in two groups according to whether they showed a frequency lower or higher than four SPE from 37 to 47 days of age, were com-

(45 y 47 días de edad). Estos valores iniciales vs los finales de frecuencia y duración del AG y las EPE fueron comparados mediante una prueba de Wilcoxon.

La edad de inicio promedio de las respuestas copulatorias (LI, LE, IPE y HR) de los sujetos, clasificados en dos grupos de acuerdo a si mostraban una frecuencia menor o mayor que cuatro EPE de los 37–47 días de edad, se compararon con una prueba de U de Mann-Whitney. En este análisis, los sujetos que no presentaron ninguna respuesta copulatoria, se asignaron al rango de la categoría superior. Un valor de $p < 0.05$ se consideró como significativo.

Para correlacionar la edad de inicio, así como la frecuencia total y la duración total de AG y EPE con el inicio de las respuestas copulatorias (I o E), se utilizó el coeficiente de correlación (r) producto-momento de Pearson. Se consideró significativo el valor de r si el valor de p fue < 0.05 .

Resultados

El acicalamiento genital presentó un aumento gradual de la frecuencia y duración conforme se alcanzó la pubertad. La frecuencia de esta conducta se incrementó desde los 27 días de edad con respecto al primer día de registro, pero los valores máximos fueron alcanzados a los 35 ($t = 13.00$; $p < 0.005$), 37 ($t = 15.0$; $p < 0.005$), 41 ($t = 14.00$; $p < 0.005$), 43, 45 y 47 días de edad ($t = 14.0$; $p < 0.005$) (Figura 1A). La duración de esta conducta también mostró un aumento desde el día 27; los valores máximos se obtuvieron a los 35 días ($t = 15.0$; $p < 0.005$) y este incremento fue mantenido hasta los 47 días de edad ($t = 14.0$; $p < 0.05$) con respecto al primer día de registro (Figura 1B).

La ocurrencia de las EPE se observó desde los 37 días de edad en 7 de los 16 sujetos alojados en aislamiento social, pero la mayor frecuencia fue alcanzada a los 43 ($t = 12.0$; $p < 0.05$, $n = 15$) y a los 47 días de edad ($t = 13.0$; $p < 0.005$, $n = 12$) (Figura 2B) con respecto a los 37 días de edad. El tiempo que permanecieron en esta conducta alcanzó los valores más altos a los 43 ($t = 25.0$; p

pared by a Mann-Whitney U test. A p value of < 0.05 was considered statistically significant.

To correlate the age of onset, as well as the total frequency and total duration of GG and SPE with the beginning of the copulatory responses (I or E), the Pearson product-moment correlation coefficient was used. The r value was considered significant, if its associated p value was < 0.05 .

Results

The genital grooming showed a gradual increase of the frequency and duration as puberty was attained. The frequency of this behavior was increased from the 27 days of age respect to first recording day, but the maximum values were reaching at 35 ($T = 13.0$; $p < 0.005$), 37 ($T = 15.0$; $p < 0.005$), 41 ($T = 14.0$; $p < 0.005$), 43, 45 and 47 days of age ($T = 14.0$; $p < 0.005$) (Figure 1A). The duration of this behavior also showed an increase from 27 days of age; the maximum values were obtained at 35 days of age ($T = 15.0$; $p < 0.005$), and this increase was maintained until 47 days of age ($T = 14.0$; $p < 0.005$) with respect to the first recording days (Figure 1B).

The occurrence of spontaneous penile erections was observed from 37 days of age in 7 of the 16 subjects alone housed, but the major frequency was reached at 43 ($T = 12.0$; $p < 0.05$, $n = 15$) and 47 days of age ($T = 13.0$; $p < 0.005$, $n = 12$) (Figure 2A) with respect to 37 days of age. The time spent in this behavior reached the highest values at 43 ($T = 25.0$; $p < 0.05$) and 45 days of age ($T = 22.0$; $p < 0.05$) with respect to 37 days of age (Figure 2B).

The median frequency and duration of GG and SPE at both initial and last days of testing are showed in the table 1. In general terms, an increase in these parameters was observed at last days of testing, both in GG and SPE. Only the duration of SPE showed a decrease at last days as compared to initial days of testing ($T = 6.0$; $p < 0.05$).

Table 2 shows the median age to the onset of the different behavioral patterns. Isolated male

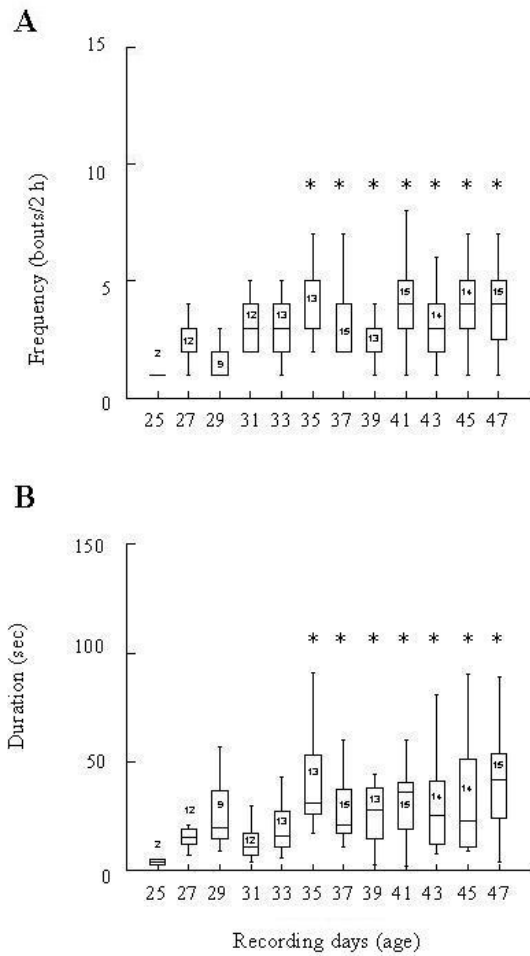
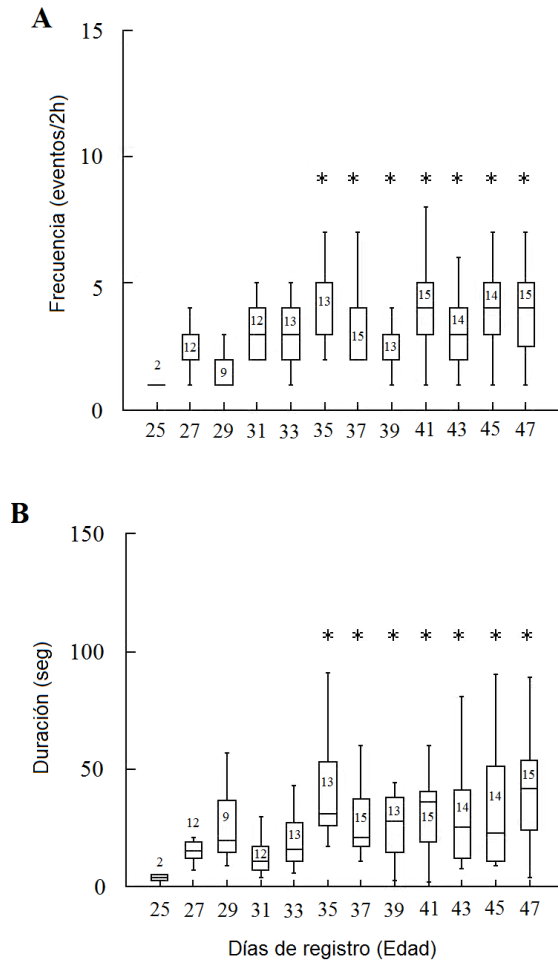


Figura 1. Secuencia temporal de la frecuencia (A) y duración (B) del acicalamiento genital a través de los días de registro. Se muestran medianas, rangos inter-cuartiles y rangos máx-mín. El número dentro de la caja indica el número de sujetos con los que se calcularon los valores. Se utilizó la prueba de Friedman seguida de la prueba de Wilcoxon como prueba post-hoc. * $p < 0.05$ respecto al primer día de registro.

Figure 1. Temporal sequence of the genital grooming frequency (A) and duration (B) throughout recording days. Medians, inter-quartile ranges and max-min ranges are shown. Number inside the box indicate the number of subjects on which were calculated. Friedman test followed by Wilcoxon post-hoc test. * $p < 0.05$ respect to first recording days.

< 0.05) y 45 días de edad ($t = 22.0$; $p < 0.05$) con respecto al día 37 de edad (Figura 2A).

La mediana de la frecuencia y la duración del AG y EPE en los días iniciales y finales de prueba se muestran en el Cuadro 1. En términos generales, se observó un aumento de estos parámetros en los últimos días de registro, tanto en el AG como en las EPE. Solo la duración de las EPE mostró una disminución en los últimos días respecto a los días iniciales del registro ($t = 6.00$; $p < 0.05$).

En Cuadro 2 muestra la mediana de la edad de inicio de los diferentes patrones del comportamiento. Las ratas macho aisladas mostraron AG

rats showed GG from day 27, SPE from 41 days of age and copula until ejaculation from 71 days of age. Although SPE were sometimes observed in the absence of GG, the major proportion of SPE was observed in association to GG bouts. The major percentage of SPE was observed at 43 days of age (Table 3).

The correlation obtained between the age at the beginning of genital grooming and penile erections with the age to reach the first I or E responses was not significant, similarly, none correlation was obtained at compare the total frequency as well as total duration of the GG and SPE that showed each subject with the age to onset the sexual behavior (Table 4).

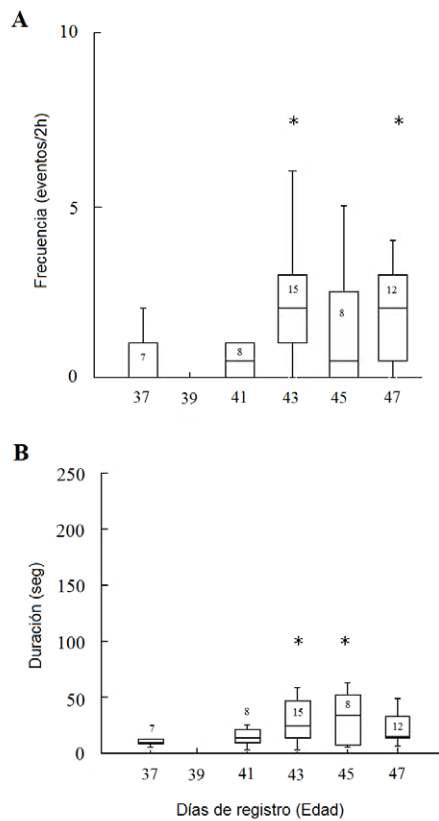


Figura 2. Secuencia temporal de la frecuencia (A) y duración (B) de las erecciones peneanas espontáneas a través de los días de registro. Se muestran medianas, rangos intercuartiles y rangos máx-mín. Se realizó la prueba de Friedman seguida de la prueba de Wilcoxon como prueba post-hoc. * $p < 0.05$ respecto al primer día de registro.

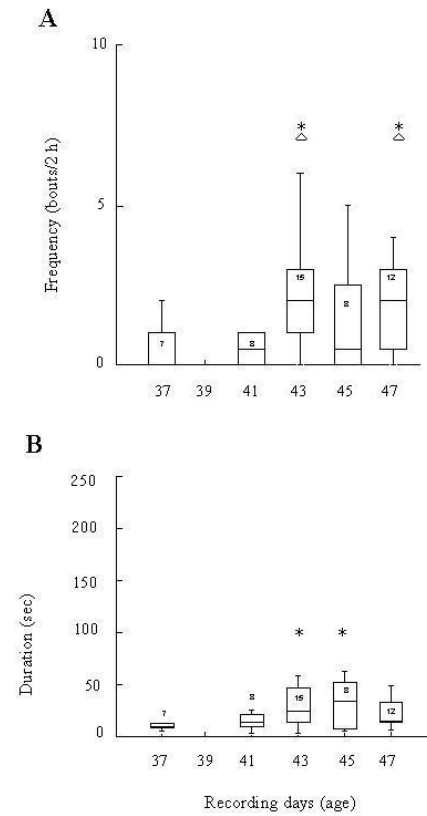


Figure 2. Temporal sequence of the spontaneous penile erections frequency (A) and duration (B) throughout recording days. Medians, inter-quartile ranges and max-min ranges are shown. Number inside of box indicate the number of subjects on which were calculated. Friedman test followed by Wilcoxon post-hoc test. * $p < 0.05$ respect to first recording days.

Cuadro 1. Medianas \pm rango inter-cuartil de la frecuencia y duración (segundos) del acicalamiento genital (AG) y erecciones peneanas espontáneas (EPE) que mostraron los machos aislados socialmente al día inicial y al final del registro. Las diferencias significativas se obtuvieron de una prueba de Kruskal-Wallis

Conducta	Día inicial	Ultimo día
Acicalamiento genital (n = 14)		
Frecuencia	0.66 eventos/h	1.66 eventos/h **
Duración	8.0 sec	9.4 sec **
Erecciones peneanas espontaneas (n =6)		
Frecuencia	0.25 erecciones/h	0.62 erecciones/h &
Duración	11.0 seg	7.0 seg ¶¶

** $p < 0.008$ significativamente mayor con respecto a los días iniciales.
 & $p < 0.05$ significativamente mayor con respecto a los días iniciales.
 ¶¶ $p < 0.05$ significativamente menor con respecto a los días iniciales.

Table 1. Medians of the frequency and duration (sec) of the genital grooming (GG) and spontaneous penile erections (SPE) bouts that showed the males isolated housed at initial and last days of testing. Significant differences were obtained from Kruskal-Wallis test.

Behavior	Initial days	Last days
Genital grooming (n = 14)		
Frequency	0.66 bouts/h	1.66 bouts/h **
Duration	8.0 sec	9.4 sec **
Spontaneous penile erections (n = 6)		
Frequency	0.25 erections/h	0.62 erections/h &
Duration	11.0 sec	7.0 sec ¶¶

** $p < 0.008$ significantly higher than initial days.
 & $p < 0.05$ significantly higher than initial days.
 ¶¶ $p < 0.05$ significantly lower than initial days.

Cuadro 2. Edad de la ocurrencia de las diferentes respuestas de comportamiento mostrada por los machos aislados socialmente.

Parámetros copulatorios	Mediana \pm rango intercuartil	
Acicalamiento genital	27.0 \pm 0	(16)
Erecciones peneanas	41.0 \pm 4	(16)
Monta	54.5 \pm 21	(14)
Intromisión	71.0 \pm 24	(13)
Eyaculación	71.0 \pm 15	(12)

Los números entre paréntesis corresponden al número de sujetos de los cuales se calcularon las medianas.

Cuadro 3. Proporción y porcentaje de la aparición del AG seguidos por EPE a lo largo de los días de registro.

Edad (días)	Proporción	%
41	13/80	16.2
43	38/89	42.6
45	22/80	27.5
47	33/90	36.6

Cuadro 4. Los valores de correlación (r de Pearson) entre la aparición, frecuencia y duración de AG y EPE, con la aparición de las conductas de intromisión y eyaculación.

	Primera intromisión	Primera eyaculación
Ocurrencia del AG	0.290	0.417
Frecuencia total	0.410	0.265
Duración total	0.316	0.227
Ocurrencia de las EPE	0.029	0.094
Frecuencia total	0.454	0.344
Duración total	0.462	0.347

desde los 27 días, EPE desde los 41 días de edad y cópula hasta eyaculación desde los 71 días de edad. Aunque algunas EPE se observaron en ausencia de AG, la mayor proporción de las EPE se observó en asociación con AG. El mayor porcentaje de EPE se obtuvo a los 43 días de edad (Cuadro 3).

La correlación obtenida entre la edad de inicio del acicalamiento genital y las erecciones peneanas con la edad de ocurrencia de las primeras respuestas de I o E no fue significativa, de manera similar, no se encontró ninguna correlación al comparar la frecuencia total, así como la duración total del AG y las EPE que mostró cada sujeto con la edad de inicio de la conducta sexual (Cuadro 4).

Table 2. Age at the first occurrence of the different behavioral responses showed by males isolated housed.

Copulatory parameter	Median \pm interquartile range	
Genital grooming	27.0 \pm 0	(16)
Penile erections	41.0 \pm 4	(16)
Mount	54.5 \pm 21	(14)
Intromission	71.0 \pm 24	(13)
Ejaculation	71.0 \pm 15	(12)

Numbers in parentheses correspond to the number of subjects upon which medians were calculated.

Table 3. Proportion and percentages of GG bouts followed by SPE throughout the recording days.

Age (days)	Proportion	%
41	13/80	16.2
43	38/89	42.6
45	22/80	27.5
47	33/90	36.6

Table 4. Correlation values (r Pearson) among onset, frequency and duration of GG and SPE, with the onset of intromission and ejaculation behavior.

	First intromission	First ejaculation
Onset GG	0.290	0.417
Total frequency	0.410	0.265
Total duration	0.316	0.227
Onset SPE	0.029	0.094
Total frequency	0.454	0.344
Total duration	0.462	0.347

Subjects were categorized in two groups according to whether they showed a frequency lower or higher than four SPE from 37 to 47 days of age and their performance of copulatory behavior was evaluated at first day in which subjects reached the ejaculation and at 77 days of age (when the highest proportion of subjects reached the E response). The quality of performance of the copulatory behavior in this group individually housed was similar between those subjects with higher or lower frequency of SPE, only the IR (main index of the copulatory efficiency) showed a decrease at day 77 as compared to day of first E response in both groups ($U = 6; p < 0.05$) (Table 5).

Cuadro 5. Parámetros copulatorios (Latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LE), intervalo posteyaculatorio (IPE), relación de intromisión (RI) con respecto al primer día en que los sujetos llegaron a la eyaculación dentro de los 77 días de edad. Los machos se clasificaron por su frecuencia de EPE.

Parámetros copulatorios	Sujetos con alta frecuencia de EPE (n = 8)		Sujetos con baja frecuencia de EPE (n = 5)	
	Primer día de E	Día 77	Primer día de E	Día 77
LI (s)	325 ± 117	248 ± 179	276 ± 344	198 ± 120
LE (s)	1215 ± 1034	972 ± 633	1148 ± 1196	1311 ± 1091
IPE (s)	378 ± 141	353 ± 158	441 ± 293	398 ± 377
RI	0.50 ± 0.14	0.42 ± 0.1 *	0.40 ± 0.13	0.32 ± 0.06 *

Medianas ± rangos intercuartil. Prueba U de Mann-Witney.

* $p < 0.05$ Significativamente más bajo que RI con respecto al primer día de E.

Table 5. Copulatory parameters (intromission latency IL, ejaculation latency EL, postejaculatory interval PEI, and intromission ratio IR) at first day in which subjects reached the ejaculation and at 77 days of age. The males were categorized by their frequency of SPE.

Copulatory parameter	Subjects with higher frequency of SPE (n = 8)		Subjects with lower frequency of SPE (n = 5)	
	Day at first E	Day 77	Day at first E	Day 77
IL (s)	325 ± 117	248 ± 179	276 ± 344	198 ± 120
EL (s)	1215 ± 1034	972 ± 633	1148 ± 1196	1311 ± 1091
PEI (s)	378 ± 141	353 ± 158	441 ± 293	398 ± 377
IR	0.50 ± 0.14	0.42 ± 0.1 *	0.40 ± 0.13	0.32 ± .06 *

Medians ± interquartile ranges. Mann-Witney U test.

* $p < 0.05$ Significantly lower than IR at day of first E.

Los sujetos fueron clasificados en dos grupos de acuerdo a si mostraban una frecuencia mayor o menor a cuatro EPE desde los 37 a los 47 días de edad y su ejecución copulatoria fue evaluada el primer día en que los sujetos lograron eyacular y a los 77 días de edad (cuando la mayor proporción de los sujetos alcanzó la respuesta de E). La eficiencia copulatoria de los sujetos hospedados individualmente, fue similar entre los grupos de mayor y menor frecuencia de EPE, solo el HR (mayor índice de eficiencia copulatoria) mostró una disminución en el día 77 a comparación con los días de la primera respuesta de E en ambos grupos ($t = 6$; $p < 0.05$) (Cuadro 5).

Discusión

Este estudio demostró que la privación social post-destete altera la relación de ocurrencia del AG y EPE en ratas juveniles, y disminuye la eficiencia sexual de los machos adultos.

Se ha reportado que en la rata, la privación social y/o de comida, entre otros efectos, pue-

Discussion

This study demonstrated that post-weaning social deprivation altered the relation of the occurrence of GG and SPE in juvenile rats, and decreased the sexual efficiency of the adult males.

It has been reported that in the rat, early social and/or food deprivation, among other lacks, may interfere with the ontogeny of mechanisms underlying self-grooming activity (Bindra & Spinner 1958; Franková 1973; Salas *et al.* 1991) and noncontact erections (Cooke 2000). The male rats are more fearful and less exploratory than females when placed in a novel environment (Beatty 1979) which leads to an increased level of self-grooming (Colbern *et al.* 1978) that in the male is restricted only to genital grooming (Moore 1986). On the other hand, grooming induced by novelty or social isolation is often described as “displacement activity” for lowering a high arousal state (Bindra & Spinner 1958; Franková 1973; Bertolini *et al.* 1978; Beatty 1979; Jolles *et al.* 1979a; Jolles *et al.* 1979b; Salas *et al.* 1991). Although the grooming is a behavior that

de interferir con la ontogenia de los mecanismos que subyacen la actividad del auto-acicalamiento (Bindra & Spinner 1958; Franková 1973; Salas *et al.* 1991) y erecciones sin contacto (Cooke 2000). Las ratas machos son más miedosos y presentan menos conductas exploratorias que las hembras cuando se les presenta un ambiente novedoso (Beatty 1979), lo cual los lleva a una mayor frecuencia de auto-acicalamiento (Colbern *et al.* 1978) que en los machos se restringe sólo al acicalamiento genital (Moore 1986). Por otra parte, el acicalamiento inducido por novedad o aislamiento social se describe como una “actividad de desplazamiento” para aminorar el estado de sobreactivación (Bindra & Spinter 1958; Franková 1973; Bertolini *et al.* 1978; Beatty 1979; Jolles *et al.* 1979a; Jolles *et al.* 1979b; Salas *et al.* 1991). Aunque el acicalamiento es una conducta que puede ser inhibida por altos grados de activación, a intensidades moderadas de activación, el acicalamiento puede facilitar una “desactivación” (Delius 1967). Así, el incremento gradual de AG en este contexto podría desempeñar un papel importante como una actividad de desplazamiento para compensar la necesidad de interacción social con sus pares y actuar como un mecanismo para disipar el estrés que podrían tener los machos en esta situación.

En este estudio, la ocurrencia de acicalamiento genital se asoció con un mayor número de erecciones penianas siguiendo la tendencia normal de esta conducta que ocurre después en un evento de acicalamiento caracterizado por una progresión cefalocaudal (Sachs 1988). La proporción de EPE no presentó un incremento con la edad (el mayor porcentaje ocurrió a los 43 días de edad), y aunque los machos aislados mostraron una mayor frecuencia de EPE en ambos días de registro, iniciales y finales, también mostraron una menor duración de EPE en los días de registro iniciales (11 segundos) comparado con días finales (7 segundos). Por tanto, es posible sugerir que la privación social post-destete altera la relación de ocurrencia entre AG y EPE en ratas juveniles y disminuye la duración de EPE.

Leipheimer & Sachs (1993) demostraron que los mecanismos efectores vasculares responsables de iniciar las erecciones son sensibles a los andrógenos. El hecho en que en este traba-

may be inhibited by high degrees of arousal, at moderate intensities of arousal grooming may act to facilitate de-arousal (Delius 1967). Thus, the gradual increase of GG in this context could be play an important role as a displacement activity to compensate the need of social interaction with their peers and act as a mechanism to dissipate the stress that could be have the males in this condition.

In this study, the occurrence of genital grooming was associated with the major number of penile erections following the normal tendency for this behavior to occur last in a bout of grooming that reliably follows a cephalocaudal progression (Sachs 1988), however, the proportion of SPE not followed an increase with the age (the major percentage occurred at 43 days of age) and, although isolated males showed a higher frequency of SPE in both, initial and final recording days, they showed a minor duration of the SPE from initial (11.0 sec) to final (7.0 sec) recording days. Thus, it is possible suggest that post-weaning social deprivation alters the relation of occurrence between the GG and SPE in juvenile rats and decrease the duration of the SPE.

Leipheimer and Sachs (1993) demonstrated that the vascular effector mechanisms responsible for initiating erections are androgen sensitive. The fact that in this work the socially isolated animals showed a major frequency but a minor duration of the SPE could be consistent with the notion that isolation-induced stress can decrease the production of androgens in gonadally intact males (Fulgheri *et al.* 1975; Lupo *et al.* 1978; Amistislavskaya *et al.* 2013), which could be result in the altered occurrence and decreased duration of SPE.

It has been reported that Wistar socially housed rats start displaying copulatory behavior at a later age than other strains of rats. While intromission and ejaculation responses are shown by Long-Evans rats at 44 and 48 days of age, respectively (Sachs & Meisel 1979), Wistar rats do not show these responses until 55 and 59 days (Hernández-González 2000), or at a larger age (Goldfoot & Baum 1972). Despite many variations on the social deprivation procedure, most studies report impairment in subsequent sexual

jo los animales socialmente aislados mostraron una mayor frecuencia pero una menor duración de EPE podría ser consistente con la noción de que el estrés provocado por el aislamiento puede disminuir la producción de andrógenos en machos gonadalmente intactos (Fulgheri *et al.* 1975; Lupo *et al.* 1978; Amistislavskaya *et al.* 2013), lo cual podría resultar en la ocurrencia alterada y menor duración del EPE.

Se reportó que ratas Wistar socialmente hospedadas comienzan a ejecutar la conducta copulatoria en una edad más tardía comparada con otras cepas de ratas. Mientras que las ratas Long-Evans muestran una respuesta de intromisión y eyaculación desde los días 44 y 48 de edad, respectivamente (Sachs & Meisel 1979), las ratas Wistar no muestran estas respuestas hasta los días 55 y 59 (Hernández-González 2000), o en una edad más tardía (Goldfoot & Baum 1972). A pesar de muchas variaciones en el procedimiento de privación social, muchos estudios reportan daños subsecuentes en la conducta sexual de las ratas machos (Gerall *et al.* 1967; Larsson 1978; Bakker *et al.* 1995; Cooke *et al.* 2000). En el presente trabajo, las ratas Wistar hospedadas individualmente alcanzaron las respuestas de I y E hasta el día 71 de edad, y aunque la edad de inicio de estos parámetros copulatorios no se vio afectada, el índice de eficacia copulatoria (HR) disminuyó en ambos, sujetos con alta y baja frecuencia de EPE.

Se demostró que tanto el AG como las EPE desempeñan un papel importante en la preparación para la reproducción de la rata macho adulta (Moore 1984; 1988; Hernández-González 2000). Los sujetos que muestran una mayor frecuencia y/o una mayor duración de AG y EPE también presentan respuestas de I y E más tempranas y tienen una menor LE y un mayor HR (Hernández-González 2000). En este trabajo, sin embargo, ni la edad de inicio de AG o EPE, ni la frecuencia o duración de estas conductas se correlacionaron con un inicio más temprano y/o una mejor ejecución de la conducta sexual. Tanto los sujetos con una mayor como con una menor frecuencia de EPE mostraron altos valores de LI (mayor a 190 segundos) y un menor valor de HR (< 0.50). El hecho de que los valores de HR fueran menores al día 77 de edad

behavior of male rats (Gerall *et al.* 1967; Larsson 1978; Bakker *et al.* 1995; Cooke *et al.* 2000). In the present work, Wistar rats individually housed reach the I and E responses until at 71 days of age and, although the onset age of these copulatory parameters was not affected, the index of copulatory efficiency (IR) was decreased in both, subjects with higher and lower frequency of SPE.

It has been shown that both, GG and SPE play an important role in the readiness of adult male rats for reproduction (Moore 1984; 1988; Hernández-González 2000). Subjects that showed a higher frequency and/or a longer duration of GG and SPE also shown early I and E responses and had shorter EL and higher IR (Hernández-González 2000). In this work, however, neither the age at the onset of GG or SPE nor frequency or duration of these behaviors were correlated with the early onset and/or best performance of sexual behavior. Both, subjects with higher and lower frequency of SPE showed higher values of IL (higher than 190 sec) and decreased values of the IR (< 0.50). The fact that IR values were minor at 77 days of age as compared to the day when the males reached the first E response, shown that neither age nor sexual experience improve the performance of their sexual behavior.

The social interaction with partners of the same age functions as a practice for adult skills and has been suggested that deprivation of juvenile social interaction (main of play fighting) leads to severe psychosocial impairments in adulthood (van den Berg *et al.* 1999; Einon *et al.* 1978), thus, is probably that this minor copulatory efficiency result as consequence of two aspects: the decreased skill to perform an adequate copulation as a result of social deprivation, the minor self-stimulation as a result of the minor time spent in SPE behavior, or a combination of both.

It has been suggested that social interaction during puberty is important to the development of different brain structures, such as the medial prefrontal cortex and the amygdala. Similarly, it has been shown that social isolation can produce changes in the functioning and neuro-

respecto al día cuando los machos alcanzaron la primer respuesta E, muestran que ni la edad ni la experiencia sexual facilita la ejecución de su conducta sexual.

La interacción social con compañeros de la misma edad funciona como una práctica para las habilidades del adulto y se ha sugerido que la privación de interacción social juvenil (principalmente la conducta de juego-pelea) produce daños psico-sociales severos en la etapa adulta (van den Berg *et al.* 1999; Eino *et al.* 1978), así, es probable que esta menor eficacia copulatoria resulte como una consecuencia de dos aspectos: la menor habilidad para ejecutar una adecuada interacción copulatoria como resultado de la privación social, la menor auto-estimulación como resultado de la menor duración de EPE, o una combinación de ambos.

Se ha sugerido que la interacción social durante la pubertad es importante para el desarrollo de diferentes estructuras cerebrales, como la corteza prefrontal medial y la amígdala. De manera similar, se ha observado que el aislamiento social puede producir cambios en la funcionalidad y modulación neuroquímica de estas estructuras (Cooke *et al.* 2000; Ferdman *et al.* 2007; Han *et al.* 2011). Debido a que estas estructuras cerebrales se han visto implicadas en la motivación sexual y el procesamiento de estímulos sexualmente relevantes (Ágmo *et al.* 1995; Hernández-González & Guevara 2009), es probable que esta reducida eficiencia copulatoria sea el resultado del funcionamiento alterado de estos núcleos cerebrales.

En conclusión, nuestros resultados muestran que el aislamiento social post-destete altera la relación de ocurrencia de AG y EPE, y disminuye la duración de EPE en el periodo juvenil; mientras que en la edad adulta, disminuye la eficacia copulatoria de las ratas machos. Es probable que esta falta de interacción social durante el periodo preadolescente afecte el procesamiento de información sensorial, los niveles hormonales o neuroquímicos, y/o el funcionamiento de ciertas estructuras cerebrales, aunque substancialmente la relación causal implicada en esta interpretación requiere de más investigación. Estos datos esclarecen el papel de la experiencia social post-destete sobre el desarrollo de los índices conduc-

chemical modulation of these structures (Cooke *et al.* 2000; Ferdman *et al.* 2007; Han *et al.* 2011). Since these cerebral areas have been implicated in sexual motivation and the processing of sexually-relevant stimuli (Ágmo *et al.* 1995; Hernández-González & Guevara 2009), it is likely that this reduced copulatory efficiency is the result of the altered functioning of these brain nuclei.

In conclusion, our findings show that post-weaning social isolation altered the relation of the occurrence of GG and SPE, and decreased the duration of SPE in the juvenile period; while in adult age, it decreased the copulatory efficiency of male rats. It is probable that this lack of social interaction during the preadolescent period affects the processing of sensory information, hormonal or neurochemical levels, and/or the functioning of certain brain structures, although substantiating the causal relationship implied in this interpretation will require further research. These data highlight the role of post-weaning social experience in the development of behavioral indices of sexual maturation, and suggest an important long-term effect on the performance of sexual behavior in male rats. ❖

tuales de maduración sexual, y sugieren un importante efecto a largo plazo sobre la ejecución de la conducta sexual en ratas machos. ❖

Referencias | References

- BAKKER, J. J. VAN OPHEMERT & A.K. SLOB. 1995.** Postweaning housing conditions and partner preference and sexual behavior of neonatally ATD-treated male rats. *Psychoneuroendocrinology* **20**: 299–310. [ISSN: 0306-4530]
- BEATTY, W.W. 1979.** Gonadal hormones and sex differences in non-reproductive behaviors in rodents. Organizational and activational influences. *Hormones and Behavior* **12**: 112–163. [ISSN: 0018-506X]
- BEATTY, W.W., A.M. DODGE, L.J. DODGE, K. WHITE & J. PANKSEPP. 1982.** Psychomotor stimulants, social deprivation and play in juvenile rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **16**: 417–422. [ISSN: 0091-3057]
- BERRIDGE, K.C. & J.C. FENTRESS. 1987.** Disruption of natural grooming chains after striato-pallidal lesions. *Psychobiology* **15**(4): 336–342. [ISSN: 0889-6313]
- BERTOLINI, A., S. GENEDANI & M. CASTELLI. 1978.** Behavioral effects of naloxone in rats. *Experientia* **34**: 771–772. [ISSN: 0014-4754]
- BINDRA, D. & N. SPINNER. 1958.** Responses to different degree of novelty. The incidence of various activities. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* **1**: 341–350. [ISSN: (Print) 0022-5002; (Online) 1938-3711]
- BOLLES, R.C. 1960.** Grooming behavior in the rat. *Journal of Comparative Physiology* **53**: 306–310. [ISSN: (Print) 0174-1578; (Online) 1432-136X]
- BROTTO, L. A., B.B. GORZALKA & L.A. HANSON. 1998.** Effects of housing conditions and 5HT2A activation on male rat sexual behavior. *Physiology & Behavior* **63**: 475–479. [ISSN: 0031-9384]
- CHRISTIE, J.F. & E.P. JOHNSEN. 1983.** The role of play in social-intellectual development. *Review of Educational Research* **53**: 93–115. [ISSN: 1990-3839]
- COLBERN, D.L., R.L. ISAACSON, E.J. GREEN & W.H. GISPEN. 1978.** Repeated intraventricular injections of ACTH 1-24: The effects of home or novel environments on excessive grooming. *Behavioral Biology* **23**: 38–1387. [ISSN: 0197-9922]
- COOKE, B.M., W. CHOWANADISAI & S.M. BREEDLOVE. 2000.** Post-weaning social isolation of male rats reduces the volume of the medial amygdala and leads to deficits in adult sexual behavior. *Behavioral Brain Research* **117**: 107–113. [ISSN: (Print) 0166-4328; (Online) 1872-7549]
- DELIUS, J. 1967.** Displacement activities and arousal. *Nature* **214**: 1259–1260. [ISSN: 0028-0836]
- EINON, D.F., M.J. MORGAN & C.C. KIBBLER. 1978.** Brief periods of socialization and later behavior in the rat. *Developmental Brain Research* **11**: 213–225. [ISSN: 0165-3806]
- FRANKOVÁ, S. 1973.** Effects of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Developmental Psychobiology* **6**: 33–43. [ISSN: 1939-0599]
- FULGHERI, F., C.L. DI PRISCO & P. VERDARELLI. 1975.** Influence of long-term isolation on the production and metabolism of gonadal sex steroids in male and female rats. *Physiology & Behavior* **14**: 495–499. [ISSN: 0031-9384]
- GERALL, H.D., I.L. WARD & A.A. GERALL. 1967.** Disruption of the male rat's sexual behavior induced by social isolation. *Animal Behaviour* **15**: 54–58. [ISSN: 0003-3472]
- GOLDFOOT, D.A. & M.J. BAUM. 1972.** Initiation of mating behavior in developing male rats following peripheral electric shock. *Physiology & Behavior* **8**: 857–863. [ISSN: 0031-9384]
- HENNESSY, M.B. 1997.** Hypothalamic-pituitary-adrenal responses to brief social separation. *Neuroscience Biobehavioral Reviews* **21**: 11–29. [ISSN: 0149-7634]
- HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M. 2000.** Prepubertal genital grooming and penile erections in rela-

- tion to sexual behavior of rats. *Physiology & Behavior*. **71**: 51–56. [ISSN: 0031-9384]
- HOFER, M.A. 1987.** Early social relationships: A psychobiologist's view. *Child Development*. **58**: 633–347. [ISSN: 1467-8624]
- HOL, T., C.L. VAN DEN BERG, J.M. VAN REE & B.M. SPRUIJT. 1999.** Isolation during the play period in infancy decreases adult social interactions in rats. *Behavioral Brain Research*. **100**: 91–97. [ISSN: (Print) 0166-4328; (Online) 1872-7549]
- HOLMES, G.M. & B.D. SACHS. 1992.** Erectile function and bulbospongiosus EMG activity in estrogen-maintained castrated rats vary with behavioral context. *Hormones and Behavior*. **26**: 406–419. [ISSN: 0018-506X]
- IKEMOTO, S. & J. PANKSEPP. 1992.** The effects of early social isolation on the motivation for social play in juvenile rats. *Developmental Psychobiology*. **25**: 261–274. [ISSN: 1939-0599]
- JOLLES, J., J. ROMPA-BARENDREGT & W.H. GISPEN. 1979B.** Novelty and grooming behavior in the rat. *Behavioral and Neural Biology*. **25**: 563–572. [ISSN: 0163-1047]
- JOLLES, J., J. ROMPA-BARENDREGT & W.H. GISPEN. 1979A.** ACTH induced excessive grooming in the rat: the influence of environmental and motivational factors. *Hormones and Behavior*. **12**: 160–172. [ISSN: 0018-506X]
- KNOWLES, P.A., R.L. CONNER & J. PANKSEPP. 1989.** Opiate effects on social behavior of juvenile dogs as a function of social deprivation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **33**: 533–537. [ISSN: 0091-3057]
- LARSSON, K. 1978.** Experiential factors in the development of sexual behavior. In: Hutchinson, J. B., eds. *Biological determinants of sexual behavior*. (New York). John Wiley & Sons: 55–86. [ISBN 10: 0471994901 / ISBN 13: 9780471994909]
- LEIPHEIMER, R.E. & B.D. SACHS. 1993.** Relative androgen sensitivity of the vascular and striated-muscle systems regulating penile erection in rats. *Physiology & Behavior*. **54**: 1085–1090. [ISSN: 0031-9384]
- LUPO DI PRISCO, C., N. LUCARINI & F. DESSI-FULGHERI. 1978.** Testosterone aromatization in rat brain is modulated by social environment. *Physiology & Behavior*. **20**: 345–348. [ISSN: 0031-9384]
- MASON, W.A. 1960.** The effects of social restriction on the behavior of rhesus monkeys: I Free social behavior. *Journal of comparative & physiological psychology* **53**: 582. [ISSN: 0021-9940]
- MEISEL, R.I. & B.D. SACHS. 1994.** The physiology of male sexual behavior. In: Kobil, E.; Neill, J. D., (eds). *The Physiology of Reproduction*. (New York): Raven Press, Ltd.: 3–105. [ISBN 10: 0881672815/ISBN 13: 9780881672817]
- MEISEL, R.L., J.K. O'HANLON & B.D. SACHS. 1984.** Differential maintenance of penile responses and copulatory behavior by gonadal hormones in castrated male rats. *Hormones and Behavior*. **18**: 56–64. [ISSN: 0018-506X]
- MOORE, C.L. & S.A. ROGERS. 1984.** Contribution of self-grooming to onset the puberty in male rats. *Developmental Psychobiology*. **17**: 243–253. [ISSN: 1939-0599]
- MOORE, C.L. 1984.** Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology*. **17**: 346–356. [ISSN: 1939-0599]
- MOORE, C.L. 1986.** A hormonal basis for sex differences in the self-grooming of rats. *Hormones and Behavior*. **20**: 155–165. [ISSN: 0018-506X]
- MOORE, C.L. 1986.** Sex differences in self-grooming of rats: Effects of gonadal hormones and context. *Physiology & Behavior*. **36**: 451–455. [ISSN: 0031-9384]
- MOORE, C.L. 1988.** Maternal and self-grooming in norway rats. Mechanisms and consequences of dissociable components. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **525**: 425–427. [ISSN: 1749-6632]
- MOORE, C.L. 1992.** The role of maternal stimulation in the development of sexual behavior and its neural basis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **662**: 160–177. [ISSN: 1749-6632]
- NOVAK, M. A. 1979.** Social recovery of monkeys isolated for the first year of life: II long-term assessment. *Developmental Psychobiology*. **15**: 50–61. [ISSN: 1939-0599]
- PANKSEPP, J, E. NELSON & M. BEKKEDAL. 1997.** Brain systems for the mediation of social separation-distress and social-reward. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **807**: 78–100. [ISSN: 1749-6632]
- PANKSEPP, J., N.J. BEAN, P. BISHOP, T. VILBERG & T.L. 1980.** Sahley. Opioid blockade and social

- comfort in chicks. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. **13**: 673–683. [ISSN: 0091-3057]
- PELLIS, S. M. 1993.** Sex and the evolution of play fighting: A review and model based on the behavior of muroid rodents. *Play Theory and Research*. **1**: 55–75. [ISBN: 0-19-516285-4]
- SACHS, B. D. & R.L. MEISEL. 1979.** Pubertal development of penile reflexes and copulation in male rats. *Psychoneuroendocrinology* **4**: 287–296. [ISSN: 0306–4530]
- SACHS, B.D. 1988.** *The development of grooming and its expression in adult animals.* In: Colbern, D.L.; W.H. Gispen, (eds.). *Neural Mechanisms and Biological Significance of Grooming Behavior.* (New York): *Annals of the New York Academy of Sciences*. 525: 1–17. [ISSN: 1749-6632]
- SACHS, B.D., J.T. CLARK, A.G. MOLLLOY, D. BITRAN & G.M. 1988.** Holmes. Relation of autogrooming to sexual behavior in male rats. *Physiology & Behavior*. **43**: 637–643. [ISSN: 0031-9384]
- SALAS, M., S. PULIDO, C. TORRERO & C. ESCOBAR. 1991.** Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: Long-term effects. *Physiology & Behavior*. **50**: 567–572. [ISSN: 0031-9384]
- VAN DEN BERG, C.L., J.M. VAN REE, B.M. SPRUIJT, H. EVERTS & J.M. KOOLHAAS. 1999.** Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. *Developmental Psychobiology*. **34**: 129–138. [ISSN: 1939-0599]