

## ***Empleo de redes sociales para el análisis de las relaciones entre dominancia y leucocitospermia en carneros con estrés experimental***

German I. Garrido Fariña-Laboratorio de apoyo a Histología y Biología (UNAM)<sup>1</sup>

Gabriela Castillo Hernández-Sección de Ciencias Morfológicas (UNAM)

José Luis Gutiérrez Hernández-CENID-Microbiología. INIFAP SAGARPA

José Francisco Morales Álvarez-CENID-Microbiología. INIFAP SAGARPA

Efrén Díaz-Aparicio-CENID-Microbiología. INIFAP SAGARPA

Carlos Manuel Romero Ramírez- Dpto. de Biología de la Reproducción (UAM)

José Luís Tortora Pérez-Sección de Patología y Análisis Clínicos (UNAM)

### **Resumen**

El análisis de datos para generar redes ha sido empleado en epidemiología y medicina preventiva, para conocer las relaciones e interacciones entre los integrantes de un núcleo social, evidenciando los factores que modifican al individuo, su rebaño o a la población completa. No hay aplicación del análisis de redes sobre las relaciones que se generan entre los datos obtenidos mediante estudios de etología y fisiología. El presente trabajo evalúa la relación entre la tasa de dominancia y la leucocitospermia, para observar la variación de las constantes y su injerencia sobre las otras, antes y después de un estímulo estresante en carneros adultos clínicamente sanos y libres de enfermedades genitourinarias. Mientras que la estadística descriptiva permite conocer las diferencias y correlaciones entre los datos obtenidos, el análisis de redes permite observar en una gráfica en dos dimensiones las relaciones entre las variables y su efecto sobre otras. El análisis de redes se podrá aplicar al estudio de constantes que afectan el comportamiento y las condiciones clínico-fisiológicas de un rebaño, permitiendo la prevención a partir de la observación de las tendencias representadas en las gráficas asociadas a la variación de las constantes de los individuos.

**Palabras clave:** Análisis de redes sociales – etología – jerarquía social – leucocitospermia – carneros

### **Abstract**

Data analysis to generate networks has been used in epidemiology and preventive medicine for the relationships and interactions between members of a social nucleus, highlighting the factors that modify the individual, his flock or the entire population. No application of network analysis on the relations between the generated data in studies of ethology and physiology. This paper evaluate the relationships between

---

<sup>1</sup> Enviar correspondencia a: German I. Garrido Fariña, correo-e: [isaurogafa@yahoo.com.mx](mailto:isaurogafa@yahoo.com.mx)



the rate of leucocytospermia dominance and to observe the variation of constants and their interference on the other, before and after a stressful stimulus in adult rams clinically healthy and free of genitourinary diseases. While descriptive statistics allows to know the difference and correlation between the data obtained, the network analysis to observe in a two-dimensional graphical relationships between variables and their effect on others. Network analysis may be applied to the study of constants affect the behavior and physiological conditions of clinical-fold, allowing prevention from the observation of trends shown in the graphs attached to the constant variation of individuals.

**Key words:** Social networks analysis - ethology - social hierarchy - leucocytospermia - rams.

## **Introducción**

El análisis de las redes sociales (ARS) en ingles "social network analysis", ha sido empleado para mejorar la interpretación que tenemos de las partes que conforman un conjunto, por ejemplo los animales en un rebaño a través de sus interacciones sociales (Wey et al 2007). Los métodos de análisis usados para estudiar la interacción entre animales, particularmente las empleadas para conocer la jerarquía social o dominancia de un grupo, han demostrado que aunque las relaciones parecen aleatorias se pueden obtener resultados lineales (Appleby 1983). Estos estudios han demostrado que las redes no son completamente regulares pero tampoco completamente aleatorias (Webb 2005).

En análisis de la información que proporcionan las redes sociales, permite conocer relaciones directas, es decir entre individuos o factores que modifican a un solo individuo, pero también pueden generar información de un modelo global, en donde las interacciones de un grupo, comportamiento, e incluso bienestar, pueden tener repercusiones sobre la población de una región, país o mundial (Makagon et al 2012).

ARS y la teoría de gráficas de la cual ha sido acompañada, permite organizar y analizar conjuntos de datos, desde pequeños grupos hasta poblaciones enteras, como herramienta permite sobreponerse a las limitaciones de los métodos estadísticos en donde la posición del individuo o del dato obtenido no afecta al resultado del análisis (Bogartii et al 2006). El ARS y en análisis de las gráficas resultantes, permite visualizar topográficamente las relaciones que se presentan entre una población de forma bi o tridimensional, en donde la definición de sus elementos vértices/nodos/actores y sus relaciones líneas/conexiones/arcos, dependen del investigador y de la pregunta que debe ser respondida (Ortiz Pelaez et al 2006).

Al emplear como método predictivo el ARS, se puede aprovechar su limitante temporal, porque en general las redes reflejan solamente el estado de las interacciones entre los individuos de un grupo en un solo momento o periodo en el

tiempo, aun cuando los datos recolectados sean a lo largo de un periodo prolongado de tiempo (Wey et al 2007).

El análisis de redes sociales se ha empleado en ciencias biológicas de forma creciente por biólogos del comportamiento y primatólogos, para describir patrones y cualidades de las interacciones entre los individuos de un grupo (Makagon et al 2012).

Los estudios de epidemiología han explotado las características del ARS para explicar las relaciones entre los factores a diferentes niveles de la estructura jerárquica en poblaciones de animales y la presentación de enfermedades (Ortiz Pelaez et al 2006), así como intentos para predecir y analizar la transmisión de enfermedades antes y durante un brote denominándole "redes de transmisión de enfermedades" (Bell et al., 1999) y el estudio de redes de riesgo potencial en la población de ovinos en Inglaterra (Webb 2005).

El estudio de las conexiones en redes neuronales del *C. elegans*, permite visualizar la estructura geométrica y prever su tamaño, este puede ser el inicio para conocer dirección multiplicidad y tipos de conexiones dentro de la información de transmisión neuronal (Morita et al 2001).

Las relaciones existentes entre la dominancia social y sus repercusiones sobre el acceso a satisfactores como agua alimento o hembras, han sido estudiadas de forma independiente o puntual para algunos animales (Appelby 2008; Boyd 1983). Se ha estudiado la proximidad física espacial entre ponies (Robertts 1998) y las relaciones entre actividad, sexo, edad y tamaño del rebaño en carneros (Michelena et al 2008).

Aunque las interconexiones entre bienestar animal y estrés no se han explorado adecuadamente (Veissier 2007), indicadores como la concentración de cortisol se emplea como indicador de estrés y puede ser un potencial indicador del bienestar animal en ausencia de estrés (Mormède 2007), modificaciones en comportamiento reproductivo (Haller 1998; Ungerfeld, 2009) y estrés psicosocial (Stefansky, 2001).

Se ha demostrado que naturalmente o bajo un contexto experimental, las constantes fisiológicas se pueden modificar, cantidad de cortisol y testosterona encontrada en suero sanguíneo, el conteo de células blancas en el hematocrito y leucocitospermia (Ortiz de Montellano, 2004).

Aunque no hay una definición general para el estrés o situaciones estresantes y no hay un análisis de laboratorio para medir los efectos del estrés, los parámetros bioquímicos o endócrinos pueden ser indicadores adecuados de las modificaciones que provoca un estímulo estresor (Möstl 2002).

El índice de dominancia ha sido empleado para agrupar en rangos a los individuos de un rebaño o unidad social (Ortiz de Montellano, 2004), de esta forma se puede relacionar el comportamiento de un animal y su respuesta dentro de su medio ambiente (Gill, 1990). Los enfrentamientos ganados por un individuo sobre otro genera el grado de dominancia dial (Senar, 1989) la cual se mide mediante la Tasa de dominancia (TD) (Mendel 1992).

El objetivo de este trabajo es analizar mediante redes la interacción entre un factor de comportamiento (tasa de dominancia) y una respuesta fisiológica (leucocitospermia), en un grupo de carneros sometidos a estrés experimental.

### **Objetivo general**

Analizar las redes generadas por la interacción entre un factor de comportamiento (tasa de dominancia) y una respuesta fisiológica (leucocitospermia), bajo condiciones de estrés experimental.

### **Metodología**

El presente trabajo se realizó en la unidad de aislamiento del INIFAP CENID Microbiología en Palo alto, DF. El manejo de los animales fue aprobado por el órgano colegiado del Posgrado en producción y salud animal de la UNAM, México y se observaron las normas oficiales mexicanas para el manejo de animales para experimentación.

Se trabajó con 24 carneros mayores a 2 años de edad, sin antecedentes de epididimitis y clínicamente sanos. Fueron alojados adecuadamente y alimentados con forraje de avena y concentrado para mantenimiento, el agua de libre acceso fue provista por bebederos automáticos.

Se decidió una aproximación inicial para medir el estrés, empleando dos variables mensurables: la tasa de dominancia (TD), esta condición etológica es una razón entre la capacidad que tiene un animal para "ganar" durante un evento agonista, esto es, cualquier situación que involucre a dos animales y los enfrente (Álvarez, 2008; Boyd, 1983; Gill, 1990; Pavónl, 2004; Synnott, 1983; Turner, 2010; Ungerfeld, 2009) y la presencia de células inflamatorias en el semen leucocitospermia (LE) (Ortiz de Montellano, 2004). Con el fin de evaluar si la TD es reproducible, a la llegada del rebaño a las instalaciones, los carneros fueron seleccionados de forma aleatoria, para conformar los 4 grupos iniciales (n=6), se observó y registró la conducta agonista

durante la alimentación en dos eventos diarios, competencia por comida (Synnott, 1984; Ungerfeld 2009) durante 50 días. La TD se calculó a partir de la fórmula propuesta por Mendl modificada:  $ID=EV/TE$  (Mendel 1992).

Experimentalmente se generó estrés agudo mediante manejo rutinario, el rebaño experimental fue reacomodado tomando en cuenta la TD y la LE obtenidos previamente durante el periodo de adaptación. Se asignaron las categorías de dominancia de acuerdo al empleado por Ortiz de Montellano, 2004, de la siguiente forma: a) rango alto (los machos de mayor rango social con índice de dominancia de 0.5 o mas), b) rango medio (los de dominancia intermedia con índices menores de 0.5 y mayores a 0.25) y c) rango bajo (de menor rango social con índices de dominancia menores a 0.25). Los grupos experimentales se conformaron con animales representativos de las 3 condiciones de jerarquía o dominancia y la cantidad de células inflamatorias presentes en el semen, los carneros fueron reorganizados en grupos que simulaban experimentalmente condiciones estresantes ocasionadas por el manejo rutinario (Jansen, 1983, Ortiz de Montellano, 2004). Desde la semana de cuarentena y durante 17 semanas se colectaron muestras de semen mediante electroeyaculación, para determinar la presencia de células no espermáticas se colorearon extensiones con hematoxilina-eosina (Ortiz de Montellano, 2004; Acosta, 2006).

### **Análisis de redes y generación de gráficas bidimensionales**

Para conocer las condiciones espaciales que se observan en una gráfica de un solo factor se construyó una base de datos en la que se representan las 24 unidades biológicas, se distribuyó el factor a estudiar iniciando con el máximo dividido entre 24, para LE  $4/24$  y para la TD  $1/24$  de este modo cada unidad teórica del grupo experimental tiene una parte proporcional más que la anterior, de esta forma se tiene una gráfica con relación perfecta. Mediante el programa Cytoscape 2.8.3. se generaron las graficas para cada constante LE y TD. La interacción entre las variables y su distribución espacial 3.2.1.

Para el análisis estadístico se empleó el programa STATGRAPHICS Plus Version 5.0 y para el análisis de redes y generación de gráficos de redes el programa Cytoscape, versiones 2.8.3. y 3.2.1.

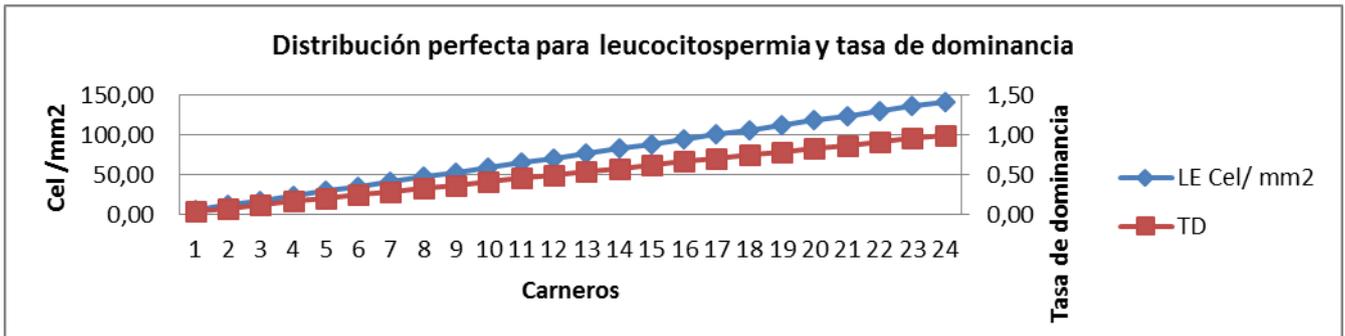


Figura 1. Características de una distribución teórica homogénea o con una distribución perfecta.

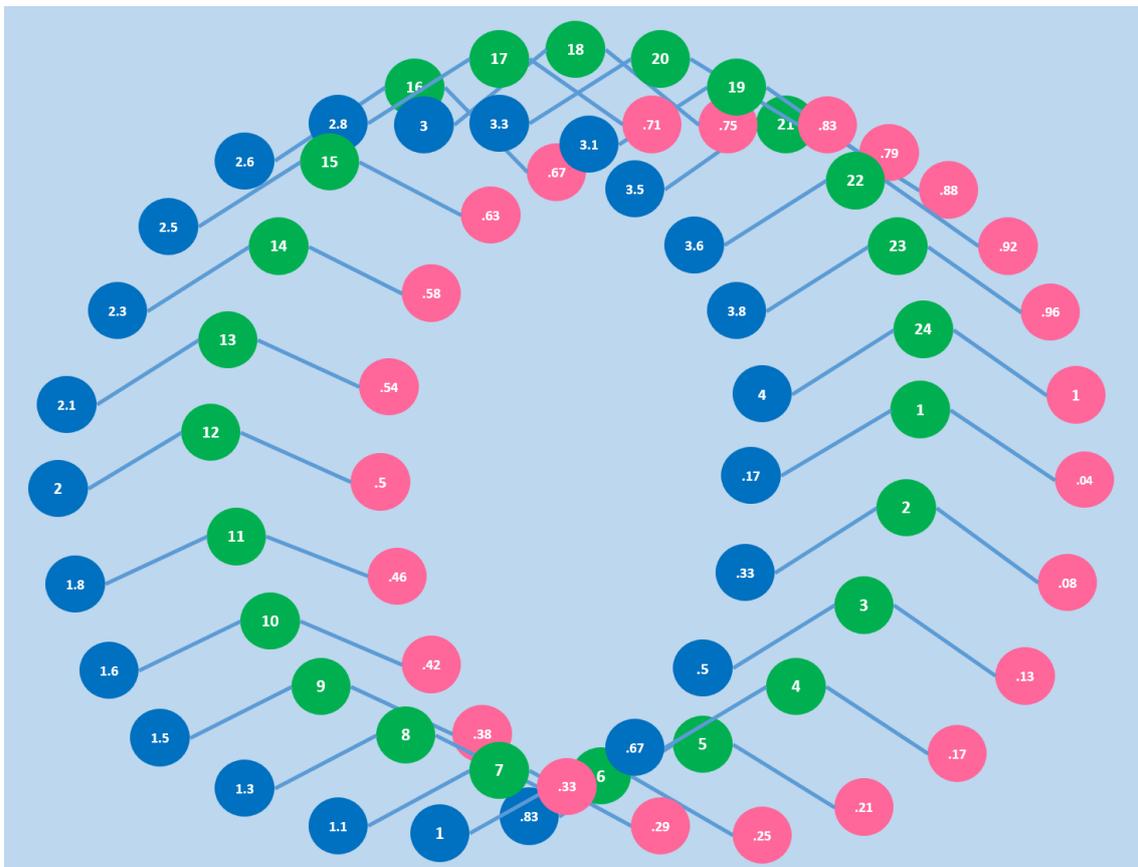


Figura 2. Esta gráfica permite observar la correlación que se obtiene con una distribución de datos homogénea en la población, con las variables, LE y TD. Nodos verdes carneros, azules LE y rosas TD.

## Resultados

### Etología y fisiología

Ortiz de Montellano (2004), es una de las únicas fuentes de información que explican la relación que existe entre el manejo de rutina durante la temporada de empadre

como factor estresante y sus consecuencias sobre las constantes fisiológicas, hematocrito, testosterona, leucocitospermia y cortisol.

Este trabajo evalúa mediante el análisis de redes, la interacción entre los resultados obtenidos al medir constantes etológicas (TD) y fisiológicas (LE).

El rebaño se comportó de acuerdo a lo reportado para grupos de carneros antes del periodo de empadre (Álvarez, 2008; Boyd, 1983; Gill, 1990; Ortiz de Montellano, 2004; Pavón, 2004; Synnott, 1983; Ungerfeld, 2009), en donde las actividades afiliativas de los animales dominantes, promueven mayor respuesta al estrés en los animales subordinados. La TD solo presenta diferencia significativa antes y después del estímulo estresante, en los animales con jerarquía alta y baja, la TD aumenta en general, a excepción de algunos animales que al ser reacomodados en los nuevos grupos, fueron ubicados con animales de menor jerarquía, por lo que su TD se acentuó en la jerarquía a la cual pertenecía. Los animales con tasa de dominancia alta presentaron un aumento moderado (no significativo  $p > 0.05$ ) en la cantidad de células en el eyaculado, mientras que los animales de dominancia media y baja presentaron un número mayor ( $p > 0.05$ ) de LE (Figura 3).

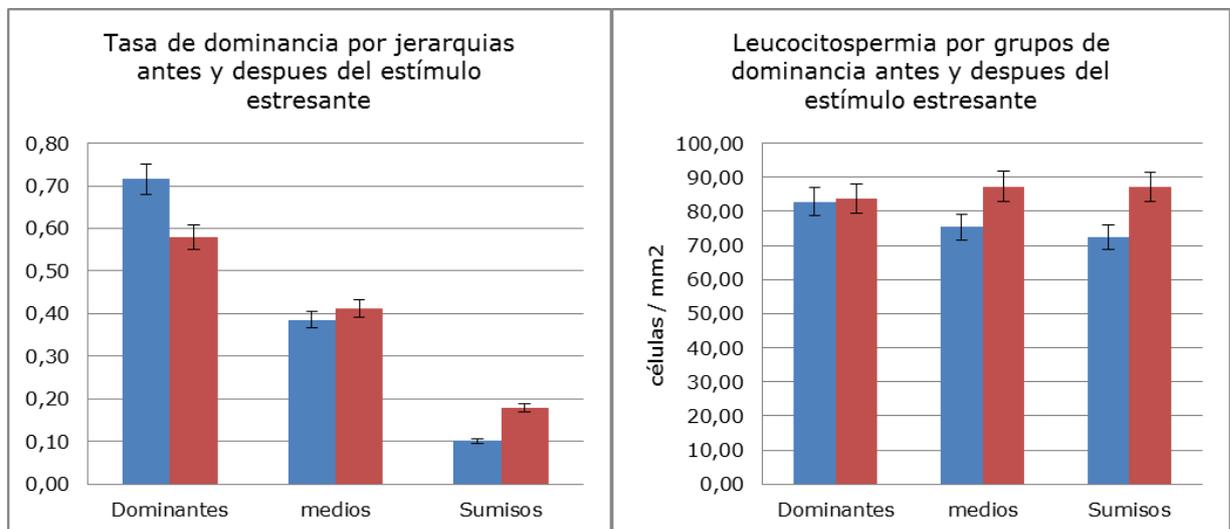


Figura 3. LE y TD antes y después del estímulo estresante.

### Análisis y visualización mediante redes

Se presenta a los carneros con nodos de color verde, TD de color azul y LE de color rosa. Las redes generadas comparan antes y después del estímulo estresante la posición de los nodos (carneros) y los lazos generados con la LE y la TD. En la red generada a partir de una base de datos con relación perfecta (fig.2), se puede

observar que los nodos se disponen en tres anillos relacionados de forma equidistante entre si, representando de esta forma el equilibrio perfecto de un grupo de animales, en donde la jerarquía representada por la TD esta repartida de forma descendente, desde el animal dominante hasta el sumiso y el efecto del estrés representado por la LE de forma ascendente desde el animal sin células en el eyaculado y menos estrés y el animal con una gran cantidad de células inflamatorias en el eyaculado con una carga de estrés mayor.

Al comparar la cantidad de LE y TD, antes y después del estímulo estresante, se puede observar que tienen una tendencia inversa. LE y TD presentan una correlación matemática negativa (-0.605).

Se puede observar que a causa del manejo estresante y dada una TD basal para cada individuo, la posición de los nodos correspondientes a LE y TD se ve modificada dentro del espacio gráfico.

Al comparar las gráficas bidimensionales obtenidas a partir de los datos experimentales contra la gráfica teórica, se puede observar que existen desplazamientos de los individuos de acuerdo a su diferencial e interacción entre constantes (Figura 4; Figura 5).

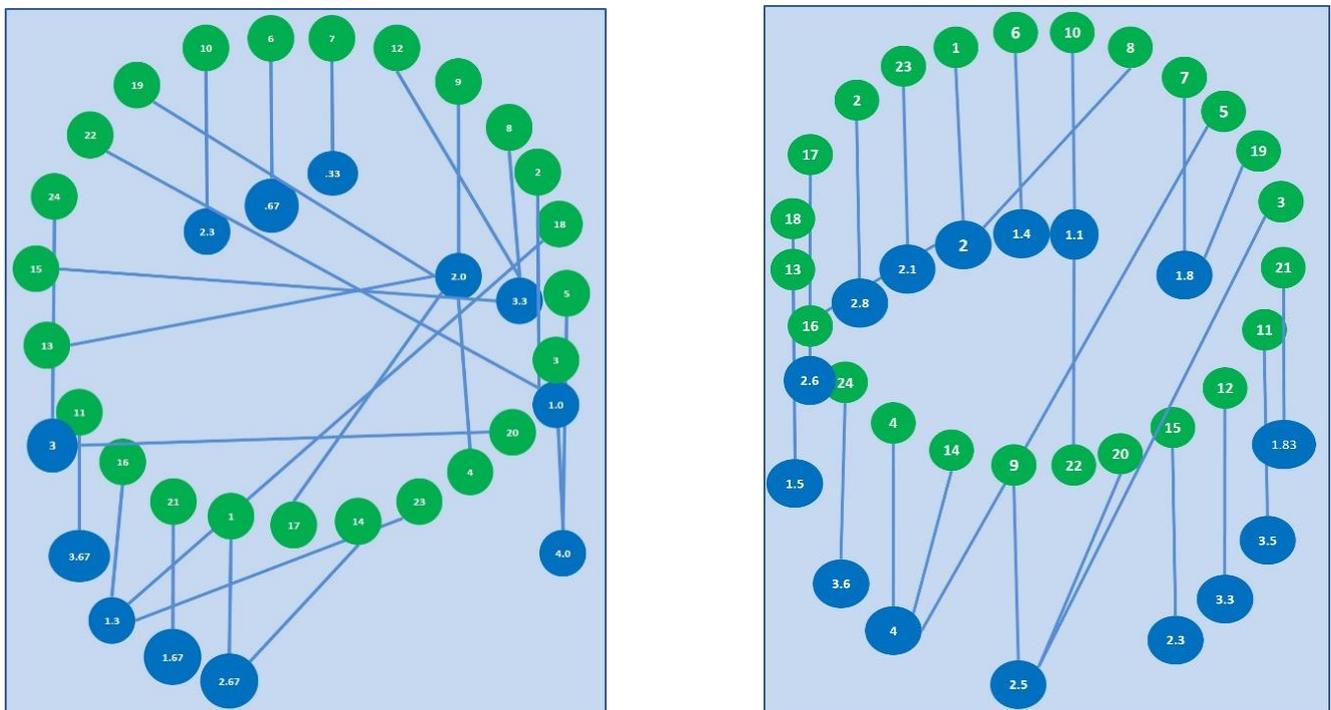


Figura 4. Leucocitopenia antes y después del estímulo estresante.

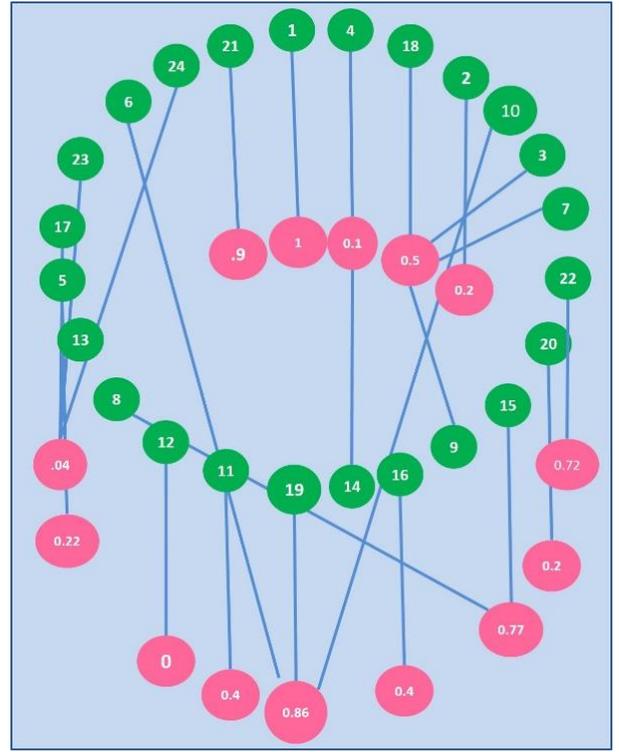
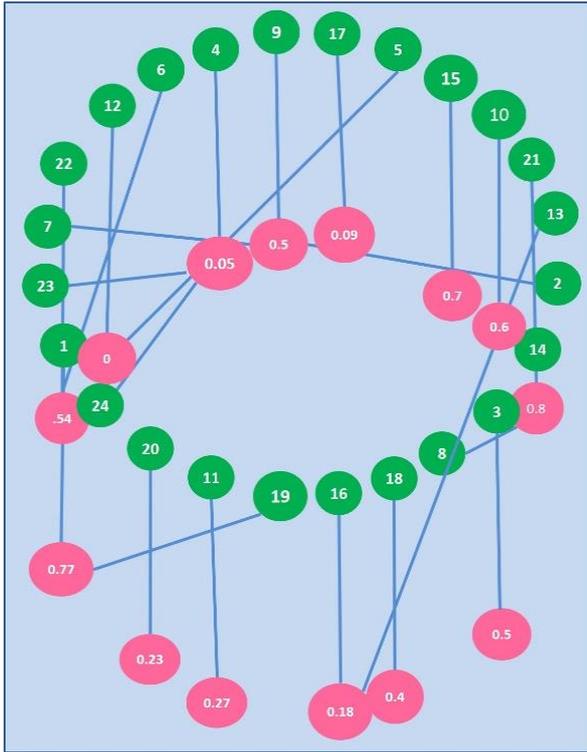


Figura 5. Tasa de dominancia antes y después del estímulo estresante.

Para comparar las condiciones del grupo de carneros antes y después del estímulo estresante, se generaron gráficos empleando como nodo de origen a las unidades experimentales, como nodo de destino la medición de TD y la interacción entre nodos de origen y destino, la LE (Figura 6; Figura 7).



del grupo animal, en cuanto a: número de animales que modificaron su LE, un aumento en la LE y la modificación de cada animal con respecto a su situación espacial en el gráfico.

## **Discusión**

En este trabajo se demuestra que a partir de series de datos que matemáticamente no tienen correlación positiva significativa, se pueden generar gráficos bidimensionales que permiten observar el desplazamiento en el espacio de las relaciones entre un componente etológico y otro fisiológico, evidenciando que son producto de alteraciones normales o provocadas experimentalmente.

La relación que guardan las constantes fisiológicas dependientes de una etológica independiente, se pueden representar dentro de un grupo en forma de redes, siendo uno de los objetivos principales evidenciar de forma gráfica los patrones generados por un grupo, así como las relaciones entre los integrantes o su posición en el conjunto (Freeman 2012; Makagon 2012).

Se puede asegurar que así como el ARS permite evaluar los efectos de la estructura social sobre, cohesión, movimiento y el uso de los recursos durante la alimentación (Michelena 2008) o bienestar animal (Makagon 2012), analizar en una población animal la potencial distribución de enfermedades (Webb, 2005), también ayuda a visualizar las relaciones entre los datos obtenidos de las interacciones sociales como la tasa de dominancia, con datos obtenidos a partir de alteraciones normales o provocadas experimentalmente en alguna o varias constantes fisiológicas, concentración de hormonas y celularidad relacionada con respuesta inmune.

Si se puede visualizar en un rebaño las relaciones que guardan los factores etológicos mensurables con sus consecuencias y los cambios en las constantes fisiológicas, permitirá evaluar rápidamente en una imagen de dos dimensiones, las distancias proporcionales entre nodos (individuos) determinadas por las líneas (atributo o concentración conocida), de esta forma las relaciones y distancias entre individuos de un núcleo social o de una población podría ayudar en la predicción de las modificaciones de constantes fisiológicas durante un período o etapa importante para el trabajo zootécnico de la especie en que se trabaje.

Cualquier aproximación al entendimiento rápido y acertado de condiciones de un grupo o rebaño, permitirá corregir para mejorar, cualquier condición que interfiera con el bienestar animal, permitirá conocer puntos de conflicto y prevenir situaciones estresantes o brotes de enfermedades (Roberts 1998).

Las relaciones entre cualquier característica así como las relaciones sociales implicadas, se deben describir cuidadosamente, para poder delimitar la dependencia entre ellas y poder predecir similitudes de patrones o interacciones entre los animales que conforman un grupo determinado, e incluso las diferencias con otros grupos. Los resultados de varios grupos podrían explicar o predecir eventos con características demográficas o regionales.

## Referencias bibliográficas

- Acosta Dibarrat, J., Díaz Aparicio, E., Arellano Reynoso, B., Tenorio Gutiérrez, V. R., & Tórtora Pérez, J. (2006). Inducción experimental de epididimitis en ovinos por inoculación intrauretral con *Actinobacillus seminis*. Estudio bacteriológico, serológico e histopatológico. *Técnica Pecuaria en México*, 44(2).
- Álvarez, L. (2008). Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos; *Archivos de Zootecología*, 57(R), 39-59.
- Appleby, M. C. (1983). The probability of linearity in hierarchies. *Animal Behaviour*, 31, 600-608.
- Bell, D. C., Atkinson, J. S. & Carlson, J. W. (1999). Centrality measures for disease transmission networks. *Social Networks*, 21, 1-21.
- Borgatti, S. P., Carley, K., & Krackhardt, D. (2006). Robustness of Centrality Measures under Conditions of Imperfect Data. *Social Networks*, 28, 124-136.
- Boyd, R., & Silk, J. B. (1983). A method for assigning cardinal dominance ranks. *Animal Behaviour*, 31(1), 45-58.
- Freeman, L. C. (2000). Visualizing social networks. *Journal of social structure*, 1(1), 4.
- Gill Warren. (2011). *Applied Sheep Behavior; Professor Animal Science Department, agricultural extension service*. Tennessee: University of Tennessee.
- Haller, J., Halasz, J., Makara, G. B., & Kruk, M. R. (1998). Acute effects of glucocorticoids: behavioral and pharmacological perspectives. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23(2), 337-344.
- Jansen, B. C. (1983). The epidemiology of bacterial infection of the genitalia in rams. *The Onderstepoort journal of veterinary research*, 50(4), 275-282.

- Makagon, M. M., McCowan, B., & Mench, J. A. (2012). How can social network analysis contribute to social behavior research in applied ethology? *Applied animal behaviour science*, *138*(3), 152-161.
- Mendl, M., Zanella, A. J., & Broom, D. M. (1992). Physiological and reproductive correlates of behavioural strategies in female domestic pigs. *Animal Behaviour*, *44*(6), 1107-1121.
- Michelena, P., Gautrais, J., Gérard, J. F., Bon, R., & Deneubourg, J. L. (2008). Social cohesion in groups of sheep: effect of activity level, sex composition and group size. *Applied animal behaviour science*, *112*(1), 81-93.
- Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., ... & Veissier, I. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & behavior*, *92*(3), 317-339.
- Möstl, E., & Palme, R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domestic animal endocrinology*, *23*(1), 67-74.
- Ortiz de Montellano, A. M. (2004). *Evaluación de las interacciones sociales en el macho cabrío y su efecto sobre la secreción hormonal y la calidad espermática*. Tesis Doctor en Ciencias Agropecuarias, Fac. de MVZ, UAY. México.
- Ortiz-Pelaez, A., Pfeiffer, D. U., Soares-Magalhaes, R. J., & Guitian, F. J. (2006). Use of social network analysis to characterize the pattern of animal movements in the initial phases of the 2001 foot and mouth disease (FMD) epidemic in the UK. *Preventive veterinary medicine*, *76*(1), 40-55.
- Roberts, J. M., & Browning, B. A. (1998). Proximity and threats in highland ponies. *Social networks*, *20*(3), 227-238.
- Romero, L. P., Hernández, M. E., Salinas, F. L., & López, G. S. (2004). Interacciones neuroendocrinoinmunológicas. *Salud mental*, *27*(3), 19.
- Senar, J. C., Camerino, M., & Metcalfe, N. B. (1989). Agonistic interactions in siskin flocks: why are dominants sometimes subordinate? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *25*(2), 141-145.
- Stefanski, V. (2001). Effects of psychosocial stress or food restriction on body mass and blood cellular immunity in laboratory rats. *Stress and health*, *17*(3), 133-140.

- Synnott, A. L., & Fulkerson, W. J. (1984). Influence of social interaction between rams on their serving capacity. *Applied Animal Ethology*, 11(3), 283-289.
- Turner, J. C. (1984). Diurnal periodicity of plasma cortisol and corticosterone in desert bighorn sheep demonstrated by radioimmunoassay. *Canadian journal of zoology*, 62(12), 2659-2665.
- Ungerfeld, R., & González-Pensado, S. P. (2009). Social Dominance and Courtship and Mating Behaviour in Rams in Non-Competitive and Competitive Pen Tests. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(1), 44-47.
- Veissier, I., & Boissy, A. (2007). Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiology & Behavior*, 92(3), 429-433.
- Webb, C. R.; (2005). Farm animal networks: unraveling the contact structure of the British sheep population. *Preventive Veterinary Medicine*, 68, 3-17.
- Wey, T., Blumstein, D. T., Shen, W., & Jordán, F. (2008). Social network analysis of animal behaviour: a promising tool for the study of sociality. *Animal behaviour*, 75(2), 333-344.