

HORMONEN EN PARTNERKEUZEGEDRAG BIJ DE RAT

De uitgave van dit proefschrift werd mogelijk gemaakt door
materiële steun van het
Nederlands Instituut voor Praeventieve Gezondheidszorg/TNO

**HORMONEN EN PARTNERKEUZEGEDRAG BIJ DE RAT
(HORMONES AND PARTNER PREFERENCE IN THE RAT)**

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE

GENEESKUNDE

AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM

OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS

PROF. DR. A.H.G. RINNOOY KAN

EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.

DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP

WOENSDAG 1 OKTOBER 1986 OM 15.45 UUR

DOOR

JEROEN ALBERTUS MARIA MERKX

GEBOREN TE 's-HERTOGENBOSCH

PROMOTIECOMMISSIE:

PROMOTOR: PROF. DR. J.J. VAN DER WERFF TEN BOSCH

OVERIGE LEDEN: PROF. DR. H.G. VAN EIJK

 PROF. DR. M.W. VAN HOF

 PROF. DR. E.P. KÖSTER

CO-PROMOTOR: DR. A.K. SLOB

INHOUD

HOOFDSTUK 1 INLEIDING	1
HOOFDSTUK 2 ACHTERGRONDEN BIJ HET ONDERZOEK	7
INLEIDING	7
PARINGSGEDRAG BIJ RATTEN	8
HORMONALE ASPECTEN VAN PARINGSGEDRAG BIJ RATTEN	10
<i>Hormonale invloeden op het bronstgedrag</i>	10
<i>van het vrouwtje</i>	
<i>Hormonale invloeden op het paringsgedrag</i>	12
<i>van het mannetje</i>	
<i>Castratie en testosteron</i>	12
<i>Oestradiol en dihydrotestosteron</i>	17
<i>Beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag bij de</i>	21
<i>vrouwelijke rat</i>	
PERINATALE INVLOEDEN VAN HORMONEN OP PARINGSGEDRAG	22
VIER FASEN IN SEKSUEEL GEDRAG	29
<i>Hormonen-gedrag-signaal interactie</i>	29
<i>Diverse benaderingen</i>	30
<i>Aantrekkingsfase, voorbereidingsfase, eindfase</i>	33
<i>en rustfase</i>	
<i>Aantrekkingsfase</i>	34
<i>Voorbereidingsfase</i>	35
<i>Eindfase</i>	36
<i>Rustfase</i>	36
SAMENVATTING	38
HOOFDSTUK 3 BESCHRIJVING VAN GEBRUIKTE MATERIALEN EN METHODEN	
en principes van door andere auteurs gebruikte	41
methoden om toenaderingsgedrag te bestuderen	
INLEIDING	41
DOOR ANDER AUTEURS GEBRUIKTE METHODEN	41
<i>Obstructiemethode</i>	43
<i>T-vormige doolhof</i>	45
<i>Vrije veld methode</i>	46
BESCHRIJVING VAN DE KRUISKOOI	47
GEBRUIKTE PROEFDIEREN	51
WEERGAVE VAN DE RESULTATEN IN GRAFIEKEN	51
GEBRUIKTE STATISTISCHE METHODEN	52
HET GEDRAG VAN DE RAT IN DE KRUISKOOI	53
SAMENVATTING	63

HOOFDSTUK 4	KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT GEDURENDE DE CYCLUS VAN HET VROUWTJE	65
	INLEIDING	65
	OPZET	67
	RESULTATEN	67
	BESPREKING	74
	SAMENVATTING	79
HOOFDSTUK 5	EFFECTEN VAN KUNSTMATIG GEINDUCEERDE BRONST BIJ EEN STIMULUSDIER OP HET KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT	81
	INLEIDING	81
	OPZET	83
	RESULTATEN	85
	BESPREKING	90
	SAMENVATTING	93
HOOFDSTUK 6	EFFECTEN VAN CASTRATIE, TESTOSTERON, DIHYDRO- TESTOSTERON EN OESTRADIOL OP KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT	95
	EXPERIMENT 1: EFFECT VAN CASTRATIE EN TESTOSTERON TOEDIENING	95
	EXPERIMENT 2: EFFECT VAN OESTRADIOL OF DIHYDROTESTOS- TERON TOEDIENING NA CASTRATIE	104
	BESPREKING	110
	SAMENVATTING	113
HOOFDSTUK 7	NEONATALE CASTRATIE EN EFFECTEN OP HET KEUZEGEDRAG	115
	INLEIDING	115
	OPZET	120
	RESULTATEN	122
	BESPREKING	128
	SAMENVATTING	131

HOOFDSTUK 8	KEUZEGEDRAG VAN GEOVARIECTOMEERDE VROUWELIJKE RATTEN NA DIVERSE HORMOON TOEDIENINGEN	133
INLEIDING		133
EXPERIMENT 1:	EFFECT VAN KUNSTMATIG GEINDUCEERDE BRONST	135
EXPERIMENT 2:	EFFECT VAN LANGDURIGE TESTOSTERON TOEDIENING	137
EXPERIMENT 3:	EFFECT VAN LANGDURIGE OESTRADIOL EN DIHYDROTESTOSTERONTOEDIENING	141
BESPREKING		144
SAMENVATTING		153
HOOFDSTUK 9	SIGNALEN DIE DE AANTREKKELIJKHEID VAN DE VROUWELIJKE RAT BEPALEN: LITERATUURGEGEVENS	155
INLEIDING		155
VISUELE SIGNALEN		156
AUDITIEVE SIGNALEN		156
OLFACTORISCHE SIGNALEN		158
INLEIDING		158
GANGMAKENDE FEROMONEN		159
Effect van mannetje op ovariele cyclus		159
Effect van vrouwtje op ovariele cyclus van ander vrouwtje		160
Effect van mannetje op verloop van zwangerschap		161
Effect van mannetje op puberteit bij vrouwtje		162
SEINENDE FEROMONEN		164
Moederlijk feromoon		164
Seksuele lokstoffen		166
Seksuele lokstoffen bij de rat		167
HOOFDSTUK 10	GEURSIGNALEN EN DE AANTREKKELIJKHEID VAN VROUWELIJKE RATTEN	171
INLEIDING		171
EXPERIMENT 1:	EFFECT VAN NARCOSE	175
EXPERIMENT 2:	EFFECT VAN VERWIJDERING VAN PREPUTIAAL- KLIEREN; WAKKERE STIMULUSDIEREN	177
EXPERIMENT 3:	EFFECT VAN VERWIJDERING VAN PREPUTIAAL- KLIEREN; NARCOSE VAN DE STIMULUSDIEREN	180
EXPERIMENT 4:	EFFECT VAN CHIRURGISCHE SLUITING VAN DE VAGINA	182
EXPERIMENT 5:	EFFECT VAN STERILISATIE VAN DE VAGINA	184
BESPREKING		186
SAMENVATTING		188

HOOFDSTUK 11 MANNELIJKE RATTEN ALS STIMULUSDIEREN	189
INLEIDING	189
EXPERIMENT 1: IN VOLWASSENHEID GECASTREERDE MANNELIJKE RATTEN ALS STIMULUSDIER	191
EXPERIMENT 2: NEONATAAL GECASTREERDE MANNELIJKE RATTEN ALS STIMULUSDIER	193
BESPREKING	196
SAMENVATTING	197
 HOOFDSTUK 12 SAMENVATTING	 199
 HOOFDSTUK 13 SUMMARY	 207
 HOOFDSTUK 14 LITERATUUR	 215
 DANKWOORD	 239
 CURRICULUM VITAE	 241

HOOFDSTUK 1

INLEIDING

Het lijkt vanzelfsprekend dat een mannelijke en vrouwelijke rat elkaars nabijheid zoeken wanneer het vrouwtje in bronst is. Deze toenadering van beide seksen is onontbeerlijk voor copulatie, bevruchting en daarop volgende zwangerschap. Ook bij solitair levende diersoorten (bijvoorbeeld de egel) zoeken vrouwelijke en mannelijke soortgenoten elkaars nabijheid gedurende de paringstijd. Er is veel onderzoek verricht naar factoren die van invloed zijn op het paringsgedrag bij dieren; de fase van toenadering tussen beide seksen is echter minder onderzocht. Dit proefschrift is een weerslag van experimenten waarbij toenaderingsgedrag van ratten onder laboratorium-omstandigheden werd bestudeerd.

In al deze experimenten werd gebruik gemaakt van een kruisvormige woonkooi waarin een rat (het looppdier) kon worden geplaatst. Deze rat heeft dag en nacht toegang via de vier armen van deze kruisvormige woonkooi tot vier kooitjes die zich aan het eind van iedere arm bevinden (eindkooitjes). In twee van deze eindkooitjes is of water of voer aanwezig, terwijl in de andere twee eindkooitjes het looppdier in de nabijheid van een soortgenoot (stimulusdier) kan verblijven, die in een kooitje zit dat boven op het eindkooitje is gemonteerd. Het stimulusdier en het looppdier zijn slechts door gaas van elkaar gescheiden. Uit de continue stroom van elkaar opvolgende activiteiten die het looppdier in deze opstelling vertoont worden slechts twee, deels van elkaar afhankelijke gedragingen onderzocht: de tijdsduur en de frequentie waarmee het looppdier de eindkooitjes bezoekt. Het

op enig tijdstip vaker verschijnen of het langer verblijven in een van de eindkooitjes is op te vatten als een voorkeur van het loopdier voor die plaats ten koste van de mogelijkheid om op enige andere plaats in de kruiskooi te toeven. Deze voorkeur is het gevolg van de keuze van het dier. Deze keuze wordt bepaald door een samenspel van inwendige factoren (bijvoorbeeld hongerig zijn) en uitwendige factoren (de aanwezigheid van voer of een soortgenoot of het aangaan van de lichten). Verandering in inwendige of uitwendige factoren beïnvloedt de keuze van het dier en het daarmee samenhangende gedrag. Wanneer de overige omstandigheden niet veranderen is een langer verblijf in de nabijheid van een van de stimulusdieren op te vatten als een voorkeur van het loopdier voor dit stimulusdier. De keuze van het loopdier om in de nabijheid van een stimulusdier te toeven zal afhankelijk zijn van factoren in het loopdier, alsook afhankelijk van factoren in het stimulusdier. Het is niet zonder meer duidelijk wat de aard (seksueel, agonistisch) is van de keuze van het loopdier omdat in de kruisvormige woonkooi nauwelijks lichamelijk contact uitgesloten is; wel kunnen stimulusdier en loopdier elkaar ruiken, horen en zien. Er is door de scheiding van gaas beperkt tactiel contact tussen een stimulusdier en een loopdier mogelijk. Om de vraag te beantwoorden of de keuze van het loopdier voor een stimulusdier op te vatten is als seksueel toenaderingsgedrag zal gebruik gemaakt dienen te worden van gegevens die in een andere opstelling over paringsgedrag verkregen zijn. Van een vrouwelijke rat is bekend dat zij slechts éénmaal per vier à vijf dagen wil copuleren, en wel gedurende de nacht van haar bronst (bij ratten is de nacht de fase van de licht-donker cyclus waarin de dieren het meest actief zijn en seksueel gedrag vertonen) [Long & Evans 1922; Larsson 1958; Richter 1970; Stefanick 1983]. Gedurende de overige dagen in deze cyclus zal ze niet toestaan dat een mannelijke soortgenoot met haar tracht te paren noch zal zij zelf hiertoe

initiatieven nemen. Bestudering van het keuzegedrag van een intacte vrouwelijke rat leert dat ze gedurende de nacht van haar bronst een duidelijke voorkeur heeft om in de nabijheid van een intacte mannelijke soortgenoot te zitten in vergelijking tot andere dagen van haar cyclus [Meyerson & Lindström 1973]. Dit gedrag van het vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst is op te vatten als seksueel toenaderingsgedrag. Ook het omgekeerde is mogelijk: bestudering van het keuzegedrag van een mannelijk looppier gedurende de bronstcyclus van een vrouwelijke rat maakt het mogelijk om een uitspraak te doen over de aard van die keuze.

In dit proefschrift wordt keuzegedrag bij mannelijke ratten bestudeerd waarbij vrouwelijke ratten als stimulusdieren gebruikt worden. Bij de mannelijke ratten worden hormonale manipulaties uitgevoerd, zoals castratie en substitutie met hormonen. Bij de vrouwelijke stimulusdieren wordt onderzocht in welke mate haar hormonale status van invloed is op het keuzegedrag van het mannelijke looppier. In de experimenten in hoofdstuk 10 staat de communicatie tussen de dieren centraal: onderzocht wordt via welke zintuiglijke prikkels de vrouwelijke dieren het keuzegedrag van een mannelijk looppier beïnvloeden.

Het gebruik van een mannetje als looppier kan wellicht de indruk wekken dat dit de meest "natuurlijke" situatie weergeeft. Calhoun [1962] beschrijft dat in een "natuurlijke" situatie het vrouwtje gedurende haar bronst haar nest verlaat om met mannelijke soortgenoten in contact te komen. Op andere dagen van haar cyclus blijft zij meer in de nabijheid van haar nest. Ook onder laboratoriumomstandigheden lijken vrouwtjes actief een partner-keuze te maken, wanneer zij daartoe in de gelegenheid zijn. McClintock, Anisko en Adler [1982, p 424], die seksueel gedrag bij ratten in groepen met meerdere vrouwtjes en mannetjes onderzochten, zeggen hierover: "Females exercised mate choice during group mating.....male rats tend to follow whichever female

is closest to them and darting away".

De beslissing om het mannetje als loopdier te gebruiken is vooral ingegeven door vele onderzoekingen die zijn verricht naar de hormonale beïnvloeding van copulatiegedrag bij deze sekse [Sachs & Barfield 1977; Dewsbury 1979; Larsson 1979].

Zo is bekend dat castratie van een mannelijke rat tot anatomische en neurofysiologische veranderingen van de penis leidt [Feder 1971; Hart, Wallach & Melese-d'Hospital 1983]. Tevens veroorzaakt castratie een afname in de paringsactiviteit van het dier [Steinach 1894; Davidson 1966]. Testosteron toediening doet beide effecten van castratie teniet [Beach & Holz-Tucker 1949; Feder 1971; Hlinák, Madlafousek & Monapellová 1979].

Naast deze zogenaamde *activerende* werking die testosteron heeft op volwassen leeftijd, is dit hormoon ook in de periode rond de geboorte van belang (de zogenaamde *organiserende* werking). In de perinatale periode zorgt testosteron er voor dat de uitwendige genitaliën zich in mannelijke richting ontwikkelen [Goy & Goldfoot 1973]. Vooral in de periode vlak na de geboorte draagt de aanwezigheid van dit hormoon ertoe bij dat ratten in volwassenheid gevoeliger zijn voor de activerende werking van testosteron: ratten die vlak na de geboorte blootgesteld zijn aan testosteron vertonen op volwassen leeftijd (na toediening van testosteron voor activering van het gedrag) meer "mannelijk" paringsgedrag dan dieren die niet aan testosteron zijn blootgesteld in de neonatale periode [Beach, Noble & Orndoff 1969]. Bij mannelijke ratten produceren de testes het testosteron dat nodig is voor de organiserende werking [Slob, Ooms & Vreeburg 1980]. Bij vrouwelijke dieren kan deze verhoogde gevoeligheid voor de activerende werking van testosteron bereikt worden door in de neonatale periode dit hormoon aan de dieren toe te dienen [Södersten 1973].

Zowel ten aanzien van de organiserende als ten aanzien van de

activerende werking van testosteron kan men de vraag stellen of de gedragseffecten veroorzaakt worden door een directe werking van testosteron op de hersenen. Een alternatieve hypothese is dat de gedragseffecten een gevolg zijn van de veranderingen aan de uitwendige genitaliën, die door testosteron veroorzaakt zijn. Bestudering van seksueel toenaderingsgedrag zal meer inzicht kunnen geven in deze vraag. Tijdens de fase van toenadering is de toestand van het mannelijk genitaal immers van ondergeschikt belang.

In het volgende hoofdstuk zal een overzicht gegeven worden van de kennis op het gebied van de hormonale beïnvloeding van seksueel gedrag bij de rat. Aan het eind van dat hoofdstuk zal verder verduidelijkt worden bij welke vragen en inzichten de experimenten in dit proefschrift aansluiten.

HOOFDSTUK 2

ACHTERGRONDEN BIJ HET ONDERZOEK

INLEIDING

Effecten van castratie op uiterlijk en gedrag bij mens en dier waren reeds bekend in de oudheid [Medvei 1982]. Berthold beschreef in 1849 de effecten van castratie bij de haan: door castratie nam de hanekam in omvang af; ook kraaiden, vochten of copuleerden de gecastreerde hanen niet meer. Geïnspireerd door de geslaagde pogingen van John Hunter (1728-1793) om bij kippen testes in de buikholte te implanteren [Medvei 1982], verplaatste Berthold bij twee hanen de testes naar de buikholte. De hanekam en het gedrag van deze dieren veranderden door deze ingreep niet, hoewel de testes van hun oorspronkelijke plaats en dus van hun oorspronkelijke zenuwvoorziening ontdaan waren. Uit deze waarneming trok Berthold de conclusie dat de testes een stof afscheiden die via het bloed invloed uitoefent op het gehele organisme, inclusief de hersenen: "durch deren (van de testes) Einwirkung auf das Blut, und dann durch entsprechende Einwirkung des Blutes auf den allgemeinen Organismus überhaupt, wovon allerdings das Nervensystem einen sehr wesentlichen Theil ausmacht" (Berthold 1849, p 46). Door Steinach is in 1894 een beschrijving van effecten van castratie bij de rat gepubliceerd.

Bijna een halve eeuw later werd testosteron uit de testes van stieren geïsoleerd [David, Dingemans, Freud & Laqueur 1935]. In 1952 werd aangetoond dat de testis deze stof aan het bloed afscheidt [West, Hollander, Kritchevski & Dobriner 1952].

De kennis en het inzicht in de rol die hormonen spelen bij de

totstandkoming van gedrag is sinds Berthold enorm toegenomen; zozeer zelfs dat Beach in 1975 dit gebied van onderzoek aanduidde als gedragsendocrinologie. De meeste studies hebben betrekking op de rol die hormonen en dan vooral geslachtshormonen spelen bij seksueel gedrag. Daarnaast zijn er effecten bekend van hormonen op andere gedragingen (bijvoorbeeld agonistisch gedrag, speelgedrag). Tegenwoordig worden ook deze zogenaamde niet-seksuele gedragingen uitgebreid onderzocht [Leshner 1978; Beatty 1979; Beach 1981]. In dit proefschrift worden experimenten beschreven die betrekking hebben op de invloed van hormonen op een onderdeel van seksueel gedrag. Dit inleidende hoofdstuk bevat een meer algemene uiteenzetting over hormonale beïnvloeding van seksueel gedrag bij ratten.

PARINGSGEDRAG BIJ RATTEN

Het merendeel van de kennis over hormonale beïnvloeding van copulatiegedrag bij ratten is in het laboratorium verkregen. Hiertoe wordt meestal gebruik gemaakt van een halfcirkelvormige observatiekooi, die aan de voorzijde is voorzien van glas of perspex. In deze kooi wordt het te onderzoeken mannetje geplaatst en krijgt het enige tijd om te adapteren [Young 1961]. Vervolgens wordt een brontige vrouwelijke rat in de observatiekooi geplaatst. Vanaf dat moment kunnen de diverse gedragingen elkaar snel opvolgen. Om gedrag in getal uit te kunnen drukken dienen diverse componenten onderscheiden te worden in de continue stroom van gebeurtenissen [Hinde 1982]. Stone en Ferguson [1940] hebben door analyse van filmmateriaal inzicht verkregen in de volgorde en diversiteit van gedragingen tijdens de paring bij de rat.

De gebeurtenissen in de observatiekooi laten zich in het kort als volgt beschrijven [Sachs & Barfield 1977; Larsson 1979]:

het bronstige vrouwtje loopt op het mannetje toe en besnuffelt hem; vervolgens schiet ze op karakteristieke wijze weg (darting) om na enkele decimeters weer abrupt tot stilstand te komen. Vaak zal ze dan ook een bolle rug maken (presenting). Tijdens dit wegschieten en stil zitten valt het trillen van de oortjes van het vrouwtje op (ear-wiggling). Ook maakt het vrouwtje sprongetjes waarbij ze maar weinig van plaats verandert (hopping). Vrijwel onmiddellijk na introductie van het bronstige vrouwtje zal het mannetje zich naar haar toewenden. Hij zal trachten haar van achteren te beklimmen. De tijdsduur tussen introductie van het vrouwtje en de eerste beklimming door het mannetje duurt slechts enkele tellen, zeker wanneer het mannetje vaker in deze situatie getest is, en er van een "ervaren" mannetje gesproken kan worden [Dewsbury 1969]. Gedragingen die aan de eigenlijke paring vooraf gaan laten zich in deze opstelling nauwelijks bestuderen. In de meeste studies is dan ook alleen het paren zelf onderwerp van onderzoek geweest. Het mannetje zal een aantal beklimmingen uitvoeren waarbij hij meestal met zijn bekken een stotende beweging maakt; bij gebruik van een spiegel die schuin onder de observatiekooi is geplaatst is waar te nemen dat bij een aantal van deze beklimmingen het mannetje zijn penis gedurende korte tijd in de vagina van het vrouwtje brengt (intromissie). Het vrouwtje maakt dit mogelijk door tijdens de beklimmingen door het mannetje een holle rug te maken (lordose). Na een aantal beklimmingen met intromissie volgt een intromissie waarbij het mannetje ejaculeert. Deze ejaculatie wordt gevolgd door een korte periode van inactiviteit (de refractaire periode), waarna het mannetje en het vrouwtje weer aan een nieuwe serie beklimmingen zullen beginnen.

Ook bij zijdelingse observatie (waarbij men geen zicht heeft op de penis) is het mogelijk om door nauwkeurige observatie van het gedrag van het mannetje onderscheid te maken tussen beklimmingen zonder intromissie, beklimming met intromissie, en

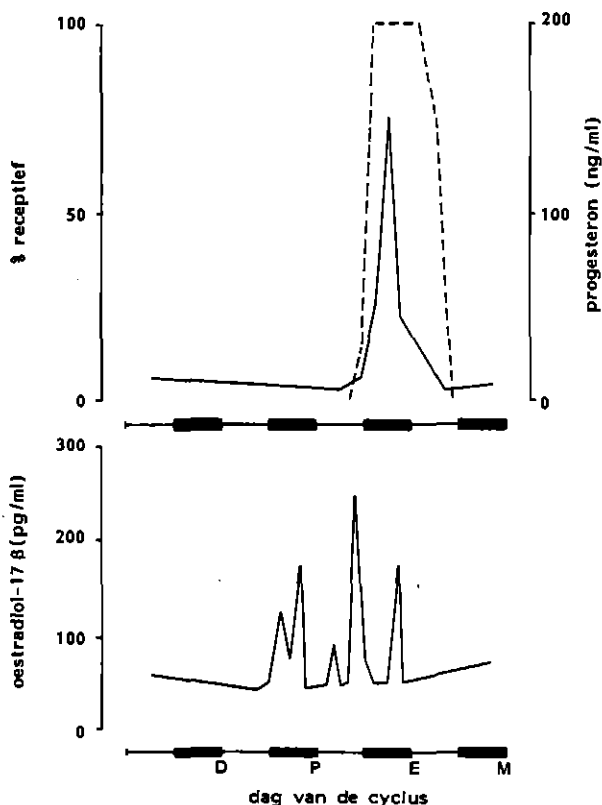
ejaculatie. Bij een beklimning met intromissie is de bekkenstoot veel langduriger en dieper dan bij een beklimning met bekkenstoot zonder intromissie. Na een intromissie springt het mannetje als het ware met kracht achteruit, van het vrouwtje af. In de meeste gevallen zal het mannetje na een intromissie zijn penis likken. Ook bij het ejaculeren vertoont het mannetje een kenmerkend gedrag. In plaats van de snelle, krachtige sprong achterwaarts, die kenmerkend is voor de intromissie, blijft hij bij het ejaculeren enige tellen boven het vrouwtje hangen, met zijn voorpootjes los van haar flanken.

In diverse experimenten is gebleken dat ook vrouwelijke ratten beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag kunnen vertonen [Beach 1938; Beach & Rasquin 1942; Baum, Södersten & Vreeburg 1974; Slob & van der Schoot 1982]. Het zal duidelijk zijn dat dit gedrag bij het vrouwtje zo genoemd wordt vanwege de grote gelijkenis die het vertoont met het gedrag dat een mannetje vertoont tijdens de paring. Bij een vrouwtje kan er immers geen sprake zijn van een intromissie of ejaculatie.

HORMONALE ASPECTEN VAN PARINGSGEDRAG BIJ DE RAT

Hormonale invloeden op het bronstgedrag van het vrouwtje

Het optreden van het bronstgedrag is duidelijk gerelateerd aan de cyclisch optredende morfologische en fysiologische veranderingen in ovaria en vagina [Long & Evans 1922]; eenmaal per 4 à 5 dagen komt het vrouwtje in bronst. Er is een duidelijk verband tussen het optreden van dit gedrag en de wisselingen in de bloedspiegels van de hormonen oestradiol en progesteron (zie figuur 2-1).



Figuur 2-1.

Relatie tussen serumconcentraties oestradiol-17 β en progesteron en receptiviteit bij intacte vrouwelijke ratten met een vier-daagse cyclus. P=prooestrus, E=oestrus, D=dioestrus, M=metoestrus (naar Södersten & Eneroth 1981).

Ovariectomie betekent voor het vrouwtje het einde van het periodieke optreden van bronstgedrag. Bij geovariectomeerde vrouwtjes is het mogelijk door middel van de hormonen oestradiol en progesteron het bronstgedrag weer te induceren [Boling & Blandau 1939; Beach 1942c; Fadem, Barfield & Whalen 1979]. Bronstgedrag wordt meestal op een lijn gesteld met receptiviteit: het feit dat het behandelde vrouwtje bereid is om een intromissie van het mannetje mogelijk te maken door haar rug hol te maken (lordose). Thor en Flannelly [1978] merken op dat de ontdekking

dat oestrogeen in combinatie met progesteron receptiviteit bij een geovariectomeerd dier kan bewerkstelligen ertoe heeft bijgedragen dat de aandacht van onderzoek zich vooral gericht heeft op de gedragingen van het mannetje: immers op ieder tijdstip kan de onderzoeker beschikken over een receptief vrouwtje waarmee de gedragingen van een behandeld mannetje getest kunnen worden. Het vrouwtje wordt als gestandaardiseerd en constant beschouwd; ze vormt tezamen met de andere testcondities het niet variabele deel van de testopstelling. Beach heeft in 1976 op deze onevenwichtigheid in onderzoek gewezen: "this paper proposes certain correctives for the existing imbalance(in) the study of feminine sexuality and its behavioral expression" (p 105). In dit artikel geeft Beach [1976] een schematische weergave van opeenvolgende fasen in seksueel gedrag, waarbij de bijdrage van beide seksen aan de totstandkoming van de paring sterk benadrukt wordt: "At each stage both sexes are equally involved". In de paragraaf "vier fasen in seksueel gedrag" worden de ideeën van Beach nader besproken.

Het is mogelijk gebleken om -onder bepaalde omstandigheden- bij volwassen gecastreerde mannetjes door toediening van oestradiolbenzoaat en progesteron receptiviteit te induceren [van de Poll & van Dis 1977; Schaeffer & Aron 1981; Schaeffer, Roos & Aron 1986]. In hoofdstuk 11 zal hier nader op in gegaan worden.

Hormonale invloeden op het paringsgedrag van het mannetje

Castratie en testosteron

Het effect van castratie op paringsgedrag bij de rat werd in 1894 door Steinach beschreven: "Dieser Grad von Potenz hielt bei dem einen Castraten 6 Monate, bei den 2 andern circa 4 Monate ungeschwächt an ...Nach diesem Stadium der unveränderten

Potenz nahm das Begattungsvermögen allmählich ab ..." (p 334). Na castratie van de mannelijke rat verdwijnt het copulatiegedrag geleidelijk: eerst verdwijnt het ejaculatiegedrag, dan het intromissiegedrag en tenslotte ook het beklimgedrag [Davidson 1966; Larsson 1979; Madlafousek, Hlinák & Beran 1976]. Toediening van testosteron leidt tot terugkeer van alle componenten van paringsgedrag. Er is een dosis-afhankelijke relatie tussen de hoeveelheid toegediend testosteron en het aantal ejaculaties in een gegeven periode; wanneer het precastratie niveau van deze parameter bereikt is vindt er geen verdere toename meer plaats [Beach & Holz-Tucker 1949].

Bij het *intacte* mannetje is de relatie tussen de testosteronspiegel in het bloed en paringsgedrag minder duidelijk [Södersten, Hansen, Eneroth, Wilson & Gustafsson 1980]. Damassa, Smith, Tennent en Davidson [1977] zochten tevergeefs naar een relatie tussen het testosterongehalte vóór de test en enige gedragscomponent tijdens de test; de mannetjes die een hoge testosteronspiegel bleken te hebben waren gedurende de test niet actiever dan mannetjes die een lagere spiegel hadden. Dagelijkse toediening van 100 µg testosteronpropionaat aan seksueel onervaren mannetjes heeft tot gevolg dat er een toename is in alle componenten van seksueel gedrag; bij seksueel ervaren mannetjes is dit effect minder duidelijk [Taylor, Weiss & Rupich 1985]. Ook is er gedurende een paringstest een stijging in het testosterongehalte te meten. Kamel en Frankel [1978] verzamelden bloedmonsters bij parende ratten via een verblijfscatheter. Gedurende de test nam het testosterongehalte toe tot 30 minuten na introductie van het brontige vrouwtje en bleef daarna op een constant hoog niveau. Deze onderzoekers vonden geen relatie tussen enige gedragscomponent en het (stijgende) testosterongehalte. Blootstelling van een mannelijke rat aan de urine van een brontige vrouwelijke rat geeft ook een verhoging van de hoeveelheid circulerend testosteron [Purvis & Haynes 1978;

Taylor, Regan, Haller 1983]. Mannelijke ratten van 27 maanden oud die niet meer copuleren hebben een lagere basale testosteronconcentratie dan jongere dieren. Deze oude mannetjes reageren niet met een stijging van het plasmatestosteron wanneer zij in contact gebracht worden met een bronsig vrouwtje [Frankel 1981]. Intacte jongere ratten, die om onbekende redenen geen paringsgedrag vertonen, reageren ook niet met een stijging in hun plasmatestosteron op de introductie van een bronsig vrouwtje. De basale testosteronspiegel bij deze niet-copulerende jonge mannetjes is evenwel niet verschillend van die van even oude seksueel-actieve mannetjes [Kamel & Frankel 1978]. Wel is er een verschil gevonden in de hoeveelheid hormoonreceptoren in specifieke hersengebieden tussen seksueel-actieve en niet-actieve mannetjes [Clark, Davis & Roy 1985]. Hoewel de functie van het stijgen van de testosteronspiegel bij seksueel actieve mannetjes in de aanwezigheid van bronsige vrouwtjes nog onduidelijk is, vond Malmnäs [1977] dat seksueel ervaren mannetjes na een eenmalige intraperitoneale injectie met testosteron die een uur voor de paringstest werd gegeven minder beklimmingen en intromissies maakten alvorens te ejaculeren.

Na castratie daalt het plasmatestosteron binnen 24 uur tot niet detecteerbaar niveau [Södersten, Hansen, Eneroth, Wilson & Gustafsson 1980]. Het aantal kunstmatig op te wekken erecties* in een vijftien minuten durende test neemt eveneens binnen 24 uur na castratie sterk af [Hart, Wallach & Melese d'Hospital 1983]. Na castratie vinden er ook anatomische veranderingen aan de penis plaats. Bij intacte mannelijke ratten bevinden zich op de glans penis verhoornde papillen. Castratie leidt tot afname van het aantal papillen [Feder 1971]. Het gewicht van de glans penis en

* Door de voorhuid van de penis bij de rat terug te trekken kunnen bij de rat erecties en penisbewegingen opgewekt worden, waarvan wordt aangenomen dat die ook tijdens de copulatie optreden [Hart 1968].

de Mm bulbocavernosi daalt sterk na castratie [Meisel, O'Hanlon & Sachs 1984]. Ook het gewicht van prostaat en zaadblazen neemt af.

In tegenstelling tot de neurofysiologische en anatomische veranderingen aan de penis, neemt het paringsgedrag na castratie slechts geleidelijk af, in de loop van weken tot maanden. Een maand na castratie vond Davidson [1966] nog bij 42 procent van de dieren ejaculatiegedrag, terwijl één mannetje nog 18 weken na castratie dit gedrag vertoonde. Ejaculatiegedrag is de eerste component in het seksuele gedrag van het mannetje die na castratie verdwijnt, gevolgd door intromissiegedrag. Beklimgedrag en precopulatoire gedragingen (zoals anogenitaal snuffelen) verdwijnen zeer langzaam [Madlafousek, Hlinák, Beran 1976; Thor 1978; Davidson 1966; Larsson 1979].

Toediening van testosteron, via subcutane of intramusculaire injecties of door middel van continue afgifte uit een siliconen rubber implantaat (een subcutaan geïmplanteerde kunststof capsule) leidt tot terugkeer van alle componenten van het paringsgedrag. Binnen 24 uur na plaatsing van een siliconen rubber implantaat met testosteron is er een toename in het aantal kunstmatig op te wekken erecties; na 48 uur is het aantal erecties niet verschillend van het aantal dat bij intacte mannelijke ratten wordt waargenomen [Gray, Smith & Davidson 1980; Hart, Wallach & Melese d'Hospital 1983]. Effecten van testosteron toediening op paringsgedrag treden pas later op. Bij ratten, die na castratie geen beklimgedrag meer vertoonden, had een eenmalige injectie met testosteron na 30 tot 54 uur het optreden van beklim- en intromissiegedrag tot gevolg [Malmnäs 1973]. Pas 15 dagen na dagelijkse toediening van 100 µg testosteronpropionaat vertoonden alle behandelde ratten intromissie- en ejaculatiegedrag [Södersten 1973a].

Voor een aantal gedragsparameters bestaat er een dosis-afhankelijke relatie met de hoeveelheid toegediend

testosteron met als maximum het precastratie niveau van de betreffende parameter. Beach en Holz-Tucker [1949] vonden een relatie tussen de hoeveelheid toegediend testosteron en het aantal ejaculaties per test. In een onderzoek waarbij aan gecastreerde ratten testosteron werd toegediend door middel van siliconen rubber implantaten met verschillende lengtes, werd duidelijk dat met name de intromissie-latentie, het post-ejaculatoire interval en de intromissie-frequentie afhankelijk waren van de plasmatestosteron-concentratie [Damassa, Smith, Tennent & Davidson 1977]. Verder werd uit dit onderzoek duidelijk dat de plasmatestosteron-concentratie die nodig is om het gedrag tot precastratie niveau te herstellen ongeveer 1/3 bedraagt van de gemiddelde testosteronconcentratie die bij intacte mannetjes voorkomt. Bij deze continu lage concentratie, die wel het paringsgedrag stimuleert, is het aantal kunstmatig op te wekken erecties per tijdseenheid lager dan voor de castratie [Hart, Wallach & Melese d'Hospital 1983]. Een verklaring hiervoor kan zijn dat bij intacte mannelijke ratten de afgifte van testosteron door de testes niet continu geschiedt. In de literatuur wordt melding gemaakt van pulserende afgifte [Bartke, Steele, Musto & Caldwell 1973; Södersten, Eneroth & Ekberg 1980], anderen vinden een trifasische afgifte [Mock, Norton & Frankel 1978], en weer anderen vinden dat de afgifte gekoppeld is aan het licht-donkerschema, waarbij gedurende de donkerperiode de hoogste concentraties worden gemeten [Keating & Tcholakian 1979].

Paringsgedrag en kunstmatig op te wekken erecties worden kennelijk verschillend door testosteron beïnvloed: na castratie herstelt een lage concentratie testosteron wel het paringsgedrag volledig, terwijl een hogere dosering nodig is om het aantal kunstmatig op te wekken erecties op precastratie niveau te brengen. Effecten van testosteron toediening op het aantal erecties zijn na 24 uur al waarneembaar, terwijl effecten op

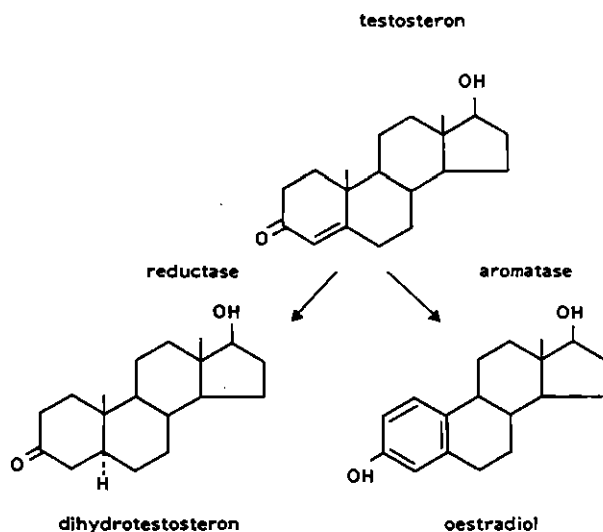
paringsgedrag pas later optreden. In de volgende paragraaf zal blijken dat ook de anatomische veranderingen en gedragsveranderingen op verschillende wijze door androgenen worden beïnvloed.

Oestradiol en dihydrotestosteron

Aanvankelijk werd aangenomen dat testosteron, het belangrijkste hormoon dat door de testis geproduceerd wordt, verantwoordelijk was voor de gedragseffecten [Young 1961]. Testosteron wordt zowel in perifere als in neurale weefsels gemetaboliseerd tot oestradiol en dihydrotestosteron (zie figuur 2-2) [Naftolin, Ryan, Davies, Reddy, Flores, Petro, Kuhn, White, Takaoka & Wolin 1975; Martini 1982].

McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker, Tan, Sampson, Kitching, Greenhill en Pritchard [1970] beschreven dat dihydrotestosteron, subcutaan toegediend in de vorm van propionaat, een stimulerend effect heeft op het lichaamsgewicht, het gewicht van de zaadblazen en van de prostaat. Er werd geen stimulerend effect van dihydrotestosteron gevonden op het paringsgedrag, terwijl testosteronpropionaat zowel het paringsgedrag stimuleerde als ook de genoemde perifere effecten veroorzaakte. Aan deze observatie, en de wetenschap dat testosteron tot oestradiol gearomatiseerd kan worden, verbonden zij de conclusie dat: "the aromatization of testosterone may be an important step in the activation of sexual behaviour". De bevindingen van Feder [1971] bevestigden deze waarnemingen van McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker, Tan, Sampson, Kitching, Greenhill en Pritchard [1970]. Onder invloed van dihydrotestosteron nam ook het aantal verhoorde papillen op de glans penis toe. In datzelfde onderzoek maakte Feder ook aannemelijk dat dihydrotestosteron de gonadotrofine secretie onderdrukt, hetgeen er op wijst dat dihydrotestosteron op hypothalamus-hypofyse niveau aangrijpt.

Gecastreerde ratten die dagelijks met een hoge dosis oestradiolbenzoaat (100 µg) worden behandeld, vertonen alle gedragscomponenten die ook een intact mannetje vertoont tijdens de paring. Voorafgaande aan het ejaculatiegedrag vertonen gecastreerde mannetjes die met oestradiolbenzoaat behandeld worden frequenter beklim- en intromissiegedrag dan intacte dieren. Deze met oestradiol behandelde dieren hebben evenwel geen



Figuur 2-2.
Structuurformules van testosteron, dihydrotestosteron en oestradiol. Testosteron kan door aromatase omgezet worden in oestradiol of door reductase in dihydrotestosteron.

normaal ontwikkelde penis [Södersten 1973a]. Het gewicht van de penis en het aantal verhoornde papillen is bij gecastreerde ratten, die met oestradiolbenzoaat behandeld worden significant lager dan bij gecastreerde ratten die met testosteron of dihydrotestosteron behandeld worden [Paup, Mennin & Gorski 1975]. Het kunstmatig opwekken van erecties is bij gecastreerde mannetjes die met oestradiol behandeld worden nauwelijks

mogelijk. Worden gecastreerde mannetjes echter met dihydrotestosteron behandeld dan zijn erecties in dezelfde mate op te wekken als bij gecastreerde mannetjes die met testosteron behandeld worden [Gray, Smith, Davidson 1980; Meisel, O'Hanlon & Sachs 1984].

Verdere ondersteuning voor de door McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker, Tan, Sampson, Kitching, Greenhill en Pritchard [1970] geformuleerde hypothese dat testosteron door aromatisering naar oestradiol effect op paringsgedrag uitoefent, wordt gevonden in de experimenten van Beyer, Morali, Naftolin, Larsson en Perez-Palacios [1976]. Zij behandelden gecastreerde mannelijke ratten met testosteron en aminogluthetimide, een stof die de aromatisering van testosteron naar oestradiol remt. Deze groep ratten vertoonde geen ejaculatie- en intromissiegedrag. Een groep gecastreerde ratten die met aminogluthetimide, oestradiol en dihydrotestosteron werd behandeld vertoonde wel alle componenten van seksueel gedrag [Morali, Larsson & Beyer 1977].

Baum en Vreeburg [1973] behandelden een groep gecastreerde ratten dagelijks met 2 μg oestradiol en 200 μg dihydrotestosteron (in de voorgaande experimenten werden de ratten behandeld met 100 μg oestradiol). Deze ratten "displayed masculine mating behaviour which was indistinguishable from that of other castrates treated with 200 μg of testosteronepropionate". Oestradiolbenzooat in een lage dosis faciliteerde wel het optreden van intromissiegedrag, zonder dat de morfologie van de penis veranderde [Baum & Vreeburg 1973; Larsson, Södersten & Beyer 1973]. Baum en Vreeburg concludeerden dat oestradiol via een effect op het centraal zenuwstelsel het optreden van beklimen en intromissiegedrag faciliteerde terwijl dihydrotestosteron via effecten op de penis het optreden van de ejaculatie bevorderde. Evenals Larsson, Södersten en Beyer [1973] gaven zij als alternatieve hypothese dat dihydrotestosteron en oestradiol synergistisch werken op hersen niveau.

Onderzoeken van Lodder en Zeilmaker [1976b] geven aan dat factoren in de penis belangrijk zijn voor het optreden van intromissie- en ejaculatiegedrag. Doorsnijding van de Nn pudendi, die onder andere de sensibiliteit van de penis verzorgen, had tot gevolg dat niet-gecastreerde mannetjes geen intromissie- en ejaculatiegedrag meer vertoonden tijdens paringstesten; ook werden er tijdens deze testen geen erecties meer waargenomen. Doorsnijding van de Nn pudendi had geen effect op het beklimgedrag. Voor het optreden van intromissie- en ejaculatiegedrag is sensorische informatie vanuit de genitaalstreek kennelijk van belang.

Lodder en Baum [1977] onderzochten door laedering van de Nn pudendi de hypothese dat dihydrotestosteron synergistisch werkt met oestradiol op hersen niveau. Gecastreerde ratten die met een lage dosis oestradiol behandeld werden in combinatie met dihydrotestosteron, vertoonden meer beklimgedrag dan gecastreerde ratten die alleen met oestradiol behandeld werden. Doorsnijding van de Nn pudendi in beide behandelingsgroepen resulteerde in een afname van de beklimfrequentie bij beide; maar ook na doorsnijding vertoonde de groep die met oestradiol en dihydrotestosteron behandeld werd hogere beklimfrequentie dan de groep die alleen met oestradiol behandeld werd. Zij concludeerden dat het effect van dihydrotestosteron op *beklimgedrag* wordt veroorzaakt door een effect van dit hormoon op hersenmechanismen die beklimgedrag regelen; het effect wordt niet veroorzaakt door de gevolgen van dihydrotestosteron toediening op de penis. Op grond van deze experimenten kan geen antwoord gegeven worden op de vraag of dit ook geldig is voor intromissie- en ejaculatiegedrag.

Men neemt op dit moment aan dat omzetting van testosteron in oestradiol nodig is voor de facilitering van beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag bij de rat (aromatisatie-hypothese) [McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker,

Tan, Sampson, Kitching, Greenhill & Pritchard 1970; Naftolin, Ryan, Davies, Reddy, Flores, Petro, Kuhn, White, Takaoka & Wolin 1975]. Dihydrotestosteron is synergistisch werkzaam met oestradiol (aromatisatie-reductie hypothese) [Baum & Vreeburg 1973; Larsson, Södersten & Beyer 1973]. Voorts is duidelijk dat dihydrotestosteron in tegenstelling tot oestradiol morfologische en neurofysiologische effecten heeft op de penis. Uit de beschikbare literatuur komt niet eenduidig naar voren in hoeverre deze neurofysiologische en morfologische veranderingen aan de penis een bijdrage leveren aan de synergistische werking van dihydrotestosteron met oestradiol op het paringsgedrag van de mannelijke rat. Daarnaast dient nog vermeld te worden dat dihydrotestosteron toediening aan gecastreerde ratten ook zonder oestradiol invloed heeft op het optreden van paringsgedrag [Yahr 1979]. Olsen en Whalen [1984] behandelden gecastreerde King-Holtzman ratten met 200 μ g dihydrotestosteron per dag. Deze behandeling activeerde bij 78 procent van de gecastreerde mannetjes het ejaculatiegedrag. Ook Paup, Mennin en Gorski [1975] vonden dat dihydrotestosteron behandelde castraten hoger scoorden met betrekking tot een aantal parameters dan met olie behandelde controles.

Beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag bij de vrouwelijke rat

Intacte vrouwelijke ratten kunnen -wanneer zij getest worden met een bronstig vrouwtje- gedragingen vertonen die ook gezien worden bij een mannetje gedurende heteroseksuele paring [Beach & Rasquin 1942; Södersten 1972]. Södersten vond een duidelijke relatie tussen het aantal beklimmings door het vrouwtje en de dag van haar cyclus; tijdens de bronst vertoonde zij het minste aantal beklimmings. De frequentie van intromissiegedrag was laag en varieerde niet gedurende de cyclus.

Testosteron toediening aan geovariectomeerde vrouwelijke ratten heeft een toename in de frequentie van beklim- en

intromissiegedrag tot gevolg [Beach 1942b; Södersten 1972; Baum, Södersten & Vreeburg 1974; Slob & van der Schoot 1982]. Oestradiolbenzooat toediening in hoge dosis, of in lage dosis in combinatie met dihydrotestosteron hebben eenzelfde effect op het paringsgedrag als testosteron toediening. Dihydrotestosteron en testosteron veroorzaken een toename in het gewicht van de clitoris. Bovendien verschijnen er tijdens de behandeling met deze hormonen verhoornde papillen op de clitoris, zoals die ook gezien worden op de penis van een intact mannetje [Baum, Södersten & Vreeburg 1974].

Lodder en Zeilmaker [1976a] vonden dat door denervatie van de externe genitaliën het optreden van intromissiegedrag bij het vrouwtje verdween zodat aangenomen mag worden dat ook bij de vrouwelijke rat dit gedrag afhankelijk is van sensorische informatie vanuit de genitaalstreek.

Beklim- en intromissiegedrag treden bij vrouwtjes die met testosteron behandeld worden in een lagere frequentie op dan bij intacte mannelijke ratten [Whalen & Olsen 1981].

PERINATALE INVLOEDEN VAN HORMONEN OP PARINGSGEDRAG

De experimenten die tot nog toe zijn beschreven hebben betrekking op de gevolgen voor paringsgedrag van endocrinologische manipulaties uitgevoerd in het volwassen dier: de *activerende* werking van hormonen.

Naast deze activerende werking wordt er een *organiserende* werking onderscheiden: de invloed die hormonen hebben op de differentiatie van het zich ontwikkelende zenuwstelsel; naar analogie van effecten die pre- en neonatale hormonen hebben op de differentiatie van de interne en externe genitaliën [Phoenix, Goy, Gerall & Young 1959; Phoenix, Goy & Resko 1968]. Harris en Levine [1962; 1965] behandelden vrouwelijke ratten vlak na de

geboorte met een eenmalige dosis testosteronpropionaat. Op volwassen leeftijd werden deze vrouwtjes geovariectomeerd. Na vervolgens met oestradiolbenzoaat en progesteron behandeld te zijn, vertoonden deze vrouwtjes minder lordosegedrag dan vrouwtjes die na de geboorte niet aan testosteron waren blootgesteld. Deze neonataal behandelde dieren vertoonden op volwassen leeftijd ook geen ovariële cyclus [Swanson & van der Werff ten Bosch 1965]. Werden deze neonataal behandelde vrouwtjes in volwassenheid behandeld met testosteronpropionaat dan toonden zij meer beklim- en intromissiegedrag dan niet-neonataal behandelde vrouwtjes.

Ward [1969] onderzocht het effect van pre- en neonatale testosteronpropionaat toediening bij vrouwelijk ratten op de ontwikkeling van genitaliën en het volwassen paringsgedrag. Vrouwtjes die zowel pre- als neonataal aan testosteronpropionaat waren blootgesteld hadden een fallus die niet te onderscheiden was van die van intacte mannetjes. Deze vrouwtjes hadden ook een "normale" prostaat. Bij vrouwelijke dieren die alleen voor de geboorte aan testosteronpropionaat waren blootgesteld had het uitwendige genitaal zich ook in mannelijk richting ontwikkeld, zij het dat de fallus kleiner was dan die van een intacte mannelijk rat; deze vrouwtjes hadden eveneens een prostaat. Vrouwtjes die na de geboorte waren behandeld met testosteronpropionaat hadden eveneens een fallus-achtige structuur maar deze was zeer afwijkend van de penis van een mannetje. Sachs en Thomas [1985] vonden dat bij deze fallussen ook kunstmatig erecties op te wekken waren.

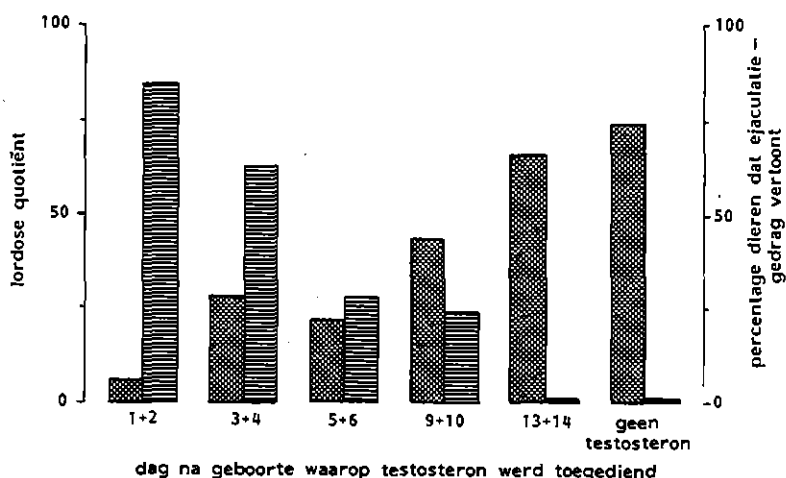
Ejaculatiegedrag -na testosteron toediening in volwassenheid- werd waargenomen bij 70 procent van de vrouwelijke dieren die zowel pre- als neonataal behandeld waren met testosteronpropionaat [Ward 1969]. Dertig procent van de vrouwtjes die alleen neonataal met testosteronpropionaat waren behandeld vertoonde eveneens ejaculatiegedrag. Dieren die alleen

prenataal aan de werking van testosteronpropionaat waren blootgesteld vertoonden geen ejaculatiegedrag. Ward concludeerde dat de fysiologische basis voor het optreden van ejaculatiegedrag zich in de neonatale periode onder invloed van testosteron differentieert. Ook experimenten van Södersten [1973b] wijzen in die richting.

Een eenmalige dosis testosteronpropionaat (1 mg) binnen 24 uur na de geboorte toegediend aan vrouwelijke ratten resulteert in een toename van het beklimgedrag in volwassenheid, zowel met de ovaria in situ als na ovariectomie. Toediening van oestradiol in volwassenheid aan geovariectomeerde vrouwtjes die in de neonatale periode met testosteronpropionaat zijn behandeld, geeft een sterke toename van beklimgedrag, maar niet van intromissiegedrag. Alleen testosteron toediening in volwassenheid aan neonataal behandelde vrouwtjes veroorzaakt ook een verschil in intromissiegedrag ten opzichte van niet-neonataal behandelde dieren [Södersten 1973b]. Alle hiervoor beschreven experimenten hebben betrekking op neonatale toediening van testosteron aan vrouwelijke dieren. Om te onderzoeken of neonataal testosteron ook bij het mannetje van belang is voor de organisatie van het beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag zijn er experimenten verricht waarin bij mannelijke dieren in de neonatale periode de testes verwijderd zijn.

Beach, Noble en Orndoff [1969] castrerden vijftig mannelijke ratten binnen 24 uur na de geboorte. Deze dieren werden over zes groepen verdeeld. Een groep kreeg na de neonatale castratie geen verdere behandeling tot in volwassenheid. De overige groepen ontvingen op 2 opeenvolgende dagen in de eerste 14 levensdagen 200 µg testosteronpropionaat. Op volwassen leeftijd werden de dieren, na "activering" met testosteronpropionaat, getest met bronstige vrouwtjes. De dieren die gedurende dag 1 + 2 of dag 3 + 4 na de geboorte met testosteronpropionaat behandeld waren vertoonden in respectievelijk 80 en 60 procent van de tests

ejaculatiegedrag (zie figuur 2-3). Werde er gekeken naar het lordosegedrag (na adequate hormonale behandeling) dan scoorden de dieren die tussen de geboorte en dag 4 aan testosteron waren blootgesteld laag, terwijl de dieren die geen verdere neonatale behandeling hadden ondergaan of op dag 13 + 14 waren behandeld het hoogst scoorden.



Figuur 2-3.

Ejaculatie- en lordosegedrag bij neonataal gecastreerde ratten, die op verschillende tijdstippen na de geboorte met testosteronpropionaat behandeld zijn. De gearceerde histogrammen geven het percentage van de behandelingsgroep weer dat na hormonale stimulatie met testosteron in volwassenheid ejaculaties vertoont. De gestippelde histogrammen geven het lordose quotiënt weer van de behandelingsgroep nadat deze met oestradiol en progesteron was behandeld. Het lordose quotiënt is het aantal lordosen van het te onderzoeken dier gedeeld door het aantal beklimmingen van de partner (naar Beach, Noble & Orndoff 1969).

Het gewicht van de penis en het aantal verhoorde papillen was, na stimulatie met testosteronpropionaat in volwassenheid, het

hoogst in de groep die gedurende dag 1 + 2 aan testosteron waren blootgesteld; het laagst in de groep die geen neonatale behandeling had ontvangen.

Uit deze experimenten blijkt dat de aanwezigheid van androgeen in de neonatale periode ertoe bijdraagt dat een rat -ongeacht het genetische geslacht- in volwassenheid na testosteron toediening beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag kan vertonen. Het vertonen van lordosegedrag, na oestradiolbenzooat en progesteron toediening, wordt door neonataal testosteron juist tegengewerkt.

Thomas, Howard en Barfield [1983] toonden aan dat het optreden van ejaculatiegedrag bij volwassen vrouwelijke ratten het sterkst wordt beïnvloed door toediening van testosteron gedurende de eerste 24 uur na de geboorte. De periode waarin testosteron het vertonen van lordosegedrag het sterkst beïnvloedt blijkt beperkt te zijn tot het eerste uur na de geboorte. Het vermogen om in volwassenheid ejaculatiegedrag te vertonen en het vermogen om lordosegedrag te vertonen kunnen dan ook onafhankelijk van elkaar beïnvloed worden.

Bij de mannelijke rat produceren de testes testosteron in de neonatale periode. In het eerste uur na de geboorte vindt er een enorme stijging van de testosteronconcentratie plaats [Slob, Ooms & Vreeburg 1980]. Ook bij het vrouwelijke dier wordt er rond de geboorte testosteron in het plasma aangetroffen, zij het in veel lagere concentraties. Dit prenatale testosteron wordt verantwoordelijk geacht voor het beklimgedrag dat normale vrouwelijke dieren in volwassenheid vertonen [Slob, Ooms & Vreeburg 1978; 1980; Slob & van der Schoot 1982].

Bij de perinatale beïnvloeding door testosteron van uiterlijk en gedrag is de vraag gesteld of testosteron zelf de effecten veroorzaakt of een van de metaboliëten van testosteron.

De ontwikkeling van de buis van Wolff tot bijbal, zaadleider en zaadblaas vindt plaats onder invloed van testosteron.

Dihydrotestosteron beïnvloedt vooral de ontwikkeling van de uitwendige genitaliën [Baum 1979; Hart 1979]. Oestradiol, in de perinatale periode gevormd uit testosteron, veroorzaakt het verminderde vermogen van mannelijke ratten om in volwassenheid lordosegedrag te vertonen [Vreeburg, van der Vaart & van der Schoot 1977; Baum 1979; Thomas, McIntosh & Barfield 1980; Whalen & Olsen 1981; Whalen, Gladue & Olsen 1986]. Toediening van dihydrotestosteron in de neonatale periode heeft geen effect op het vermogen van neonataal gecastreerde ratten om in volwassenheid lordosegedrag te vertonen [McDonald & Doughty 1972].

Over het effect van oestradiol in de perinatale periode op het vermogen om in volwassenheid beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag te vertonen is de literatuur minder eensluidend. Toediening in de neonatale periode van de aromatase remmer ATD (waardoor er uit testosteron geen oestradiol gevormd wordt) resulteerde niet in een verminderd optreden van intromissie- en ejaculatiegedrag bij ratten die in de neonatale periode aan testosteron waren blootgesteld. Deze dieren, zowel genetische mannetjes als vrouwtjes, vertoonden na adequate hormonale behandeling, naast beklimgedrag ook lordosegedrag [Vreeburg, van der Vaart & van der Schoot 1977; Thomas, McIntosh & Barfield 1980]. Anderzijds vond van der Schoot [1980] dat bij neonataal gecastreerde ratten een eenmalige toediening van oestradiolbenzooat op de eerste dag na de geboorte, in combinatie met dihydrotestosteronpropionaat op dag 1, 3 en 5 resulteerde in normaal copulatiegedrag na testosteron behandeling in volwassenheid. Ook Södersten en Hansen [1978] vonden faciliterende effecten van neonatale oestradiolbenzooat toediening op ejaculatiegedrag in volwassenheid.

Hart [1979] behandelde neonataal gecastreerde ratten gedurende de eerste 14 levensdagen met oestradiolbenzooat, dihydrotestosteron of beide hormonen samen. Alleen de groep

ratten die beide hormonen tegelijkertijd kreeg toegediend vertoonde in volwassenheid een even hoog percentage ejaculatiegedrag als niet-neonataal behandelde intacte mannetjes. De groep mannetjes die in de periode na de geboorte alleen aan dihydrotestosteron waren blootgesteld (en daardoor een normaal ontwikkelde penis hadden) vertoonden intromissiegedrag in een hogere frequentie, dan de dieren die met oestradiol, oestradiol en dihydrotestosteron, of testosteron behandeld waren; zij vertoonden evenwel geen ejaculatiegedrag, wat de dieren uit de andere behandelingsgroepen wel deden.

De kunstmatig op te wekken erecties waren bij de dihydrotestosteron behandelde dieren niet verschillend in aantal en vorm van die van intacte mannetjes. Bij neonataal gecastreerde, met oestradiol behandelde mannetjes was het nauwelijks mogelijk om erecties op te wekken.

De literatuur overziend kan gezegd worden dat de aanwezigheid van testosteron in de neonatale periode invloed heeft op gedragingen in volwassenheid. Een aantal effecten van neonataal testosteron wordt veroorzaakt door de omzetting naar oestradiol; op een bepaald tijdstip bewerkstelligt oestradiol een verminderd optreden van lordosegedrag in volwassenheid, terwijl oestradiol op een ander tijdstip in de neonatale periode ertoe bijdraagt dat het dier na adequate hormoon behandeling in volwassenheid ejaculatiegedrag vertoont. Het vermogen om in volwassenheid na oestradiol en progesteron toediening lordosegedrag te vertonen is onafhankelijk te beïnvloeden van het vermogen om in volwassenheid na testosteron toediening beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag te vertonen. Ze vormen geen twee uitersten van hetzelfde continuum [Leshner 1978].

Voor effecten van testosteron op de anatomie en neurofysiologie van de uitwendige genitaliën is de metaboliët dihydrotestosteron van belang. Het is niet duidelijk in hoeverre

de veranderingen aan de uitwendige genitaliën bijdragen aan geobserveerde gedragsverschillen in volwassenheid.

VIER FASEN IN SEKSUEEL GEDRAG

Hormonen-signaal-gedrag-interactie

Tot nu toe zijn effecten van hormonale manipulaties op paringsgedrag beschreven, waarbij uitsluitend het behandelde dier is geobserveerd. Paringsgedrag is evenwel een sociaal gedrag, waarbij het ene dier dient als een stimulus voor het andere dier [Leshner 1978]; een mannelijke rat toont slechts copulatiegedrag wanneer er een bronstige partner aanwezig is. Tot nog toe is aangenomen dat een geovariectomeerd vrouwtje na oestradiol en progesteron toediening in bronst is. Hlinák en Madlafousek [1981] laten zien dat er een geleidelijke overgang is van niet-bronstig zijn naar volledig in bronst zijn. De mate van bronst kan het gedrag van het mannetje mede beïnvloeden, zoals Steinach in 1894 al heeft beschreven: "die Begattung (van gecastreerde mannetjes) wurde insbesondere, wenn das Probeweibchen gerade hitzig war, ...mehrmals hintereinander wiederholt" (p 334). Hlinák, Madlafousek en Mohapelová [1979] laten zien dat de hoeveelheid testosteron die aan een gecastreerde mannelijke rat gegeven moet worden om paringsgedrag te herstellen mede wordt bepaald door het gedrag van het bronstige vrouwtje. Evenzo wordt het gedrag van het vrouwtje beïnvloed door de hormonale status van het mannetje. Vreeburg en Ooms [1985] komen op grond van hun experimenten tot de conclusie dat het oortrillen van een bronstig vrouwtje afhankelijk is van de hormonale status van het mannetje. Een bronstige vrouwelijke rat vertoont meer oortrillen wanneer zij getest wordt met een gecastreerd mannetje dat met

dihydrotestosteron behandeld is, dan wanneer haar partner een gecastreerd mannetje is dat met oestradiol behandeld is. Aan deze bevinding verbinden zij de hypothese dat de synergistische werking die dihydrotestosteron heeft op de werking van oestradiol op het paringsgedrag van de mannelijke rat, mede veroorzaakt kan worden door een perifeer effect van dihydrotestosteron in het mannetje dat invloed heeft op het gedrag van het vrouwtje. Dit gedrag van het vrouwtje zal het mannetje mede activeren tot paringsgedrag.

Om de hormoon-gedrag interacties nader te bestuderen is uitbreiding en verfijning van gedragsparameters nodig [Beach 1976; Herbert 1977; Hinde 1982], waarbij ook effecten van hormonen op de interactie en communicatie tussen dieren betrokken dienen te worden. Uit de onderzoeken van Hlinák, Madlafousek en Mohapelová [1979] en Vreeburg en Ooms [1985] blijkt dat hormonen ook invloed hebben op de signaalfunctie van het behandelde dier. Beach [1976] heeft een uitbreiding aangebracht, door vier fasen in seksueel gedrag te onderscheiden (zie figuur 2-4). Deze schematische voorstelling biedt de mogelijkheid om hormoon-signaal-gedrag interacties te bestuderen. Alvorens deze schematische voorstelling nader te bespreken zal in de navolgende paragraaf een aantal andere modelvoorstellingen in het kort worden weergegeven. Onderdelen uit deze voorstellingen zijn terug te vinden in de door Beach voorgestelde fasen van seksueel gedrag [Beach 1976].

Diverse benaderingen

In 1929 maakte Nissen al een onderscheid tussen de fase die aan copulatie voorafgaat en de fase waarin de copulatie zelf plaatsvindt. In overeenstemming met de toen gangbare idee van "drive", duidde hij dit aan met "contractation drive" en

"detumescence drive". Onder "drive" werd de gehele interne stimulatie verstaan die tot een bepaald gedrag aanzette. De eerste "drive" zou aanzetten tot het bij elkaar komen van potentiële partners, terwijl de "detumescence drive" aanzette tot de paring, resulterend in detumescentie van de penis na een ejaculatie. Hoewel Nissen tot de conclusie kwam dat deze "drives" door endocrinologische manipulaties in verschillende mate werden beïnvloed, werd aan deze tweedeling weinig aandacht gegeven. Young [1961] zegt hierover: "the concept has been described largely for the purposes of clarification of terminology; it has not influenced the methods of scoring, which are based on the display of the two functions as a sequence". Onderzoek richtte zich vooral op de covariatie in hormonen en paringsgedrag waarbij alleen het behandelde dier onderwerp van onderzoek was [Beach 1975; Herbert 1977; Beach 1981].

In de ethologische benadering kan seksueel gedrag als een reeks gedragingen aangemerkt worden die een functionele eenheid vormen [Hinde 1982]. Craig [1918] en vooral Lorenz [1937] hebben er op gewezen dat in een gedragsreeks een tweetal fasen te onderscheiden is: een inleidende fase (waarvan het gedrag appetitief genoemd wordt) en een eindfase (waarin het eindgedrag of de "consummatory acts" plaatsvinden). De gedragingen in de inleidende fase, die onregelmatig en variabel zijn, lijken erop gericht een zodanige conditie te vinden, dat tot het eindgedrag kan worden gekomen [Tinbergen 1969]. Het eindgedrag bestaat uit relatief stereotype gedragingen, die gevolgd worden door het acuut verdwijnen van de bereidheid om hetzelfde gedrag te herhalen.

In de ethologische benadering van gedrag is ook veel aandacht besteed aan de stimuli die aanleiding geven tot een bepaald gedrag [zie bv. Tinbergen 1953]. Lehrman [1965] -een Amerikaans psycholoog- heeft door zijn experimenten en observaties bij de duif gewezen op de onderlinge samenhang tussen omgevingsstimuli

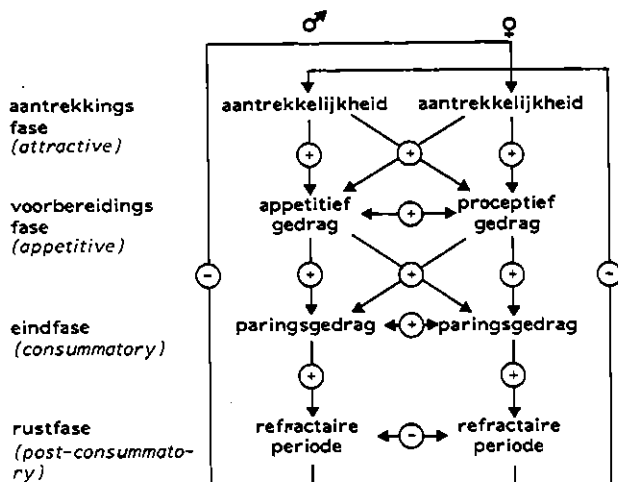
(waaronder signalen van de soortgenoot), hormonen en gedrag. Hij benadrukte dat niet zonder meer kan worden aangenomen dat gedragseffecten van hormonen veroorzaakt worden door een directe werking van deze hormonen op het niveau van het centraal zenuwstelsel. Onderzocht dient te worden of een door hormonen veroorzaakte somatische verandering niet de prikkel is tot een bepaald gedrag, waarbij ook de omgeving van het dier in het onderzoek betrokken dient te worden. Ter verduidelijking: een hormonale manipulatie bij het mannetje leidt tot een bepaalde somatische verandering, bijvoorbeeld afscheiding van een geur; een vrouwelijk dier reageert op deze verandering bij het mannetje met een bepaald gedrag; het mannetje reageert gedragsmatig op het gedrag van het vrouwtje. Oppervlakkig gezien kan de indruk ontstaan dat de hormonale manipulatie van het mannetje bij hem -als het ware door een directe werking op het centraal zenuwstelsel- de gedragsverandering veroorzaakt, terwijl in werkelijkheid deze gedragsverandering veroorzaakt wordt door het veranderde gedrag van het vrouwtje.

In 1967 komen Herbert en Trimble, en Micheal, Saayman en Zumpe tot de conclusie dat er bij resus apen een onderscheid gemaakt dient te worden tussen de receptiviteit van het vrouwelijk dier en haar "attractiveness". Onder receptiviteit verstaan de auteurs de mate waarin het vrouwelijke dier het mannetje uitnodigt om met haar te paren. "Attractiveness" omvat de stimuluswaarde van het vrouwelijke dier voor het mannetje. Michael, Saayman en Zumpe [1967] gebruikten als maat hiervoor de ratio van het aantal beklimmingen door het mannetje en de uitnodigingen door het vrouwtje. Zowel Michael Saayman en Zumpe [1967] als Herbert en Trimble [1967] komen tot de conclusie dat de "attractiveness" van een vrouwelijk resusaap kan veranderen onafhankelijk van haar receptiviteit.

Aantrekkingsfase, voorbereidingsfase, eindfase en rustfase

De schematische onderverdeling van seksueel gedrag in vier fasen, zoals door Beach voorgesteld in 1976, is weergegeven in figuur 2-4. In de beginfase worden de dieren tot elkaar aangetrokken (aantrekkingsfase). Als reactie op elkaars aantrekkelijkheid gaan de dieren gedragingen vertonen (voorbereidingsfase) waarmee ze blijken geven van hun wederzijdse "belangstelling" in een eventuele copulatie (het eindgedrag). Vervolgens vindt de copulatie plaats. Na dit eindgedrag volgt er een periode waarin de dieren weinig activiteit vertonen; gedragingen uit de voorbereidingsfase zijn niet meer waarneembaar. Het schema laat zien dat er bij seksueel gedrag sprake is van interactie en communicatie tussen beide partners; aan iedere fase wordt door beide seksen deelgenomen. Duidelijk blijkt dat het eindgedrag, de copulatie, voorafgegaan wordt door een groot aantal andere gedragingen, die van invloed kunnen zijn op de mogelijkheid om het eindgedrag uit te voeren. Voorts geeft dit schema aan dat seksueel gedrag veroorzaakt wordt door een reactie van het individuele dier op signalen uitgaande van de partner. In het schema komt duidelijk naar voren dat hormonale manipulaties van de afzonderlijke partners in de verschillende fasen van invloed zijn op het gedrag van het behandelde dier, maar ook het gedrag van de partner kunnen beïnvloeden.

In het oorspronkelijke artikel "Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals" heeft Beach de verschillende fasen uitgewerkt voor het vrouwelijke dier. Het geheel aan gedragingen uit de voorbereidende fase wordt dan aangeduid met proceptief gedrag; het gedrag in de eindfase wordt bij het vrouwelijke dier receptief gedrag genoemd [Beach 1976].



Figuur 2-4

Schematische voorstelling van de vier opeenvolgende fasen bij een heteroseksuele interactie.

De aantrekkelijkheid van de partner stimuleert het dier tot het vertonen van gedrag uit de voorbereidingsfase. Dit gedrag verhoogt (1) de aantrekkelijkheid van het dier, (2) stimuleert hierdoor het appetitieve gedrag bij de partner, (3) lokt het paringsgedrag bij de partner uit, (4) brengt het dier in een zodanig conditie dat het overgaat tot paringsgedrag. Uitvoering van het paringsgedrag leidt ertoe dat het dier in de rustfase komt. In de rustfase reageert het dier tijdelijk niet op prikkels die in een eerder stadium de aantrekkelijkheid van de partner bepalen. De termen tussen de haakjes vermelden de termen zoals deze door Beach [1976] in zijn oorspronkelijke artikel "Attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals" gebruikt zijn.

Aantrekkingsfase

Aantrekkelijkheid (attractivity) omvat de stimuluswaarde van een dier, beginnend bij het vermogen om de aandacht te trekken van een potentiële partner die al dan niet in de onmiddellijke nabijheid verkeert, tot en met het vermogen om het eindgedrag bij de partner op te wekken. De aantrekkelijkheid van een dier wordt gemeten aan het gedrag van het andere dier. De stimuli of signalen die een dier aantrekkelijk maken voor een partner omvatten zowel gedragsmatige als niet-gedragsmatige elementen.

Voorbeelden van deze laatste soort signalen zijn het zwellen van de genitaliën bij sommige aapsoorten gedurende de ovariële cyclus; ook de geur die loopse teven verspreiden waar reuen op afkomen behoort hiertoe. Het typische "hopping" en "darting" van bronstige ratten is een gedragsmatige stimulus die haar aantrekkelijkheid voor mannelijke ratten verhoogd [Madlafousek & Hlinak & Beran 1976].

Voorbereidingsfase

Deze fase omvat gedragingen die door een dier vertoond worden "to sexually stimulate the individual performing the behavior and simultaneously stimulate the partner" [Beach 1976, p 473]. Een goede Nederlandse vertaling voor de oorspronkelijke term "appetitive" is niet aanwezig; men zou kunnen spreken over "hofmakerij" wanneer het gedrag uit deze fase uitgebreide en ingewikkelde gedragspatronen omvat, zoals bij de meeste vogels het geval is. In dit proefschrift zullen de gedragingen uit deze fase *appetitief* gedrag genoemd worden.

Een kenmerk van appetitief gedrag is dat het vanuit de partner gezien tot de aantrekkelijke stimuli gerekend zou worden. Het eerder genoemde "darting" en "hopping" behoort tot de appetitieve gedragingen van een bronstige rat; voor het mannetje lijken ze uiterst stimulerend en zodoende wellicht aantrekkelijk. Een ander kenmerk van gedragingen uit deze fase van seksueel gedrag is de selectiefunctie. Het blijkt dat bronstige ratten met elkaar wedijveren om door middel van appetitieve gedragingen de aandacht van een copulerend mannetje te trekken. Dit wedijveren wordt vooral duidelijk wanneer het mannetje bijna ejaculeert: "if the male was about to ejaculate, females were more likely to compete among each other, intercept the male as he was following another female, and induce him to change partners" [McClintock, Anisko & Adler 1982]. Bij honden is waargenomen dat loopse teven niet-favoriete mannetjes afwijzen, terwijl zij appetitieve

gedragingen vertonen naar de begeerde seksuele partner [Beach & LeBoeuf 1967]. Gedragingen uit deze fase van seksueel gedrag hebben tot doel de dieren in een zodanige conditie te brengen dat het eindgedrag uitgevoerd kan worden.

Bij iedere diersoort worden in deze fase een aantal soortspecifieke gedragingen vertoond; een aantal gedragingen komt echter bij verschillende diersoorten voor. Oriëntatie naar en verblijf in de buurt van een begeerde partner is een gedrag dat bij alle diersoorten voorkomt. Meyerson en Lindström [1973] vonden dat vrouwelijke ratten gedurende de bronst de nabijheid van een intacte mannelijke soortgenoot verkozen boven het verblijf in de buurt van een ander vrouwtje. Mannelijke ratten zoeken de nabijheid van bronstige vrouwtjes op [Landauer, Wiese & Carr 1977].

Eindfase

Het gedrag in de eindfase omvat een aantal stereotype gedragingen die in een vaste volgorde of volgens een min of meer voorspelbaar patroon worden uitgevoerd; nadat dit eindgedrag heeft plaatsgevonden vindt er een plotselinge afname plaats in appetitieve gedragingen. Er is geen duidelijke grens te trekken tussen appetitieve gedragingen en gedragingen die tot de fase van het eindgedrag gerekend dienen te worden. De overgang tussen beide fasen is geleidelijk. Bij de mannelijke rat wordt onder het eindgedrag het paringsgedrag verstaan: beklimmingen, intromissies en de ejaculatie. De vrouwelijk rat neemt in deze fase van seksueel gedrag een zodanige positie aan dat intromissie mogelijk is (lordose-gedrag).

Rustfase

De rustfase wordt gekenmerkt door een tijdelijke ongevoeligheid van het dier voor omgevingsprikkels, die in een eerdere fase aanleiding waren om appetitieve gedragingen te gaan

vertonen. Bij de mannelijke rat is deze fase duidelijk waarneembaar; na een ejaculatie vertoont het dier nauwelijks enige activiteit. Het blijft stil zitten en de borstkas gaat traag maar duidelijk zichtbaar op en neer. In deze fase produceert de mannelijke rat een hoogfrequent (22 kHz) geluid, de zogenaamde post-ejaculatoire "song" [Barfield & Geyer 1972]. Zolang het mannelijke dier dit geluid produceert is hij niet ontvankelijk voor prikkels van een bronstige soortgenoot. Opmerkelijk is dat mannelijke ratten ook vóór de ejaculatie 22 kHz vocalisaties produceren. In deze fase induceren deze vocalisaties bij het vrouwelijke dier meer proceptieve gedragingen [McIntosh, Barfield & Geyer 1978]. Dezelfde signalen lijken dus in een andere context een andere betekenis te hebben.

De invloed van hormonen op elk van deze vier fasen zal onderzocht dienen te worden. Deze invloed kan in iedere fase verschillend zijn, waarbij door hormonale manipulaties het uitgezonden signaal kan veranderen. Ook kan de verwerking van dit signaal door de ontvanger onder invloed van hormonen veranderen. Om de theorie van bovenstaand schema toetsbaar te maken zullen voor ieder van de vier fasen kenmerken gedefinieerd moeten worden, die zoveel mogelijk onafhankelijk zijn van de kenmerken die gebruikt worden om een andere fase in maat en getal uit te drukken.

In de experimenten die in dit proefschrift beschreven worden, zullen aspecten van de aantrekkelijkheid van de vrouwelijke rat en aspecten van appetitief gedrag van de mannelijk rat onderzocht worden. Om deze twee fasen, die voorafgaan aan het eigenlijke paringsgedrag, te bestuderen wordt van een methode gebruik gemaakt waarbij copulatie (het eindgedrag) is uitgesloten. Bekende hormonale effecten op paringsgedrag zullen de bestudering van de voorafgaande fasen kunnen vertroebelen doordat van het paringsgedrag zelf positieve of negatieve effecten kunnen uitgaan op appetitieve gedragingen en op de aantrekkelijkheid van een

dier. Ter verduidelijking: gecastreerde mannelijke ratten tonen mogelijkserwijs nog wel een voorkeur voor een vrouwtje in bronst, maar zijn door de castratie minder aantrekkelijk voor dit vrouwtje. Dit vrouwtje zal niet die gedragingen gaan vertonen die nodig zijn om het mannetje tot copulatie aan te zetten; misschien mijdt dit vrouwtje zelfs het voor haar onaantrekkelijke mannetje.

Appetitief gedrag en aantrekkelijkheid worden in de experimenten in dit proefschrift bestudeerd in een kruisvormige woonkooi, waarin meestal een mannetje als looppier is geplaatst. De keuze die het looppier op enig moment maakt om ergens te verblijven dan wel heen te gaan zal als keuzegedrag worden aangeduid. In de hoofdstukken 4, 6, 7 en 8 wordt dit keuzegedrag als maat voor het appetitieve gedrag van het looppier gebruikt. In de hoofdstukken 4, 5, 10 en 11 wordt hetzelfde keuzegedrag gebruikt als maat voor de aantrekkelijkheid van het stimulusdier.

SAMENVATTING

Invloeden van hormonen op gedrag, met name seksueel gedrag is onderwerp geweest van veel onderzoek. Tot voor kort hadden deze studies vooral betrekking op het paringsgedrag van het behandelde dier. Paringsgedrag werd bestudeerd in een halfcirkelvormige observatiekooi, terwijl het te onderzoeken dier diverse hormonale manipulaties had ondergaan. Deze onderzoekingen hebben een grote hoeveelheid informatie opgeleverd. Toch werd langzaam duidelijk dat hormonen niet alleen hun invloed hadden in het dier dat er mee behandeld werd maar ook indirect op diens partner. In 1976 introduceerde Beach een modelvoorstelling waarin hij tot uitdrukking bracht dat seksueel gedrag in belangrijke mate veroorzaakt wordt door wederkerige beïnvloeding van de partners. Tevens maakte deze modelvoorstelling duidelijk dat seksueel

gedrag in vier fasen onderverdeeld kan worden: een aantrekkingsfase, een voorbereidende fase, een eindfase en een rustfase.

In dit proefschrift worden aspecten van aantrekkelijkheid bij de vrouwelijke rat en aspecten van het voorbereidende gedrag bij de mannelijke rat bestudeerd. Als parameter voor beide fasen zal het keuzegedrag van het looppdier in een kruisvormige woonkooi worden gebruikt.

HOOFDSTUK 3

BESCHRIJVING VAN GEBRUIKTE MATERIALEN EN METHODEN en principes van door andere auteurs gebruikte methoden om toenaderingsgedrag te bestuderen

INLEIDING

In dit hoofdstuk zal het principe van de kruisvormige woonkooi worden besproken, evenals de huisvesting van de proefdieren en de gebruikte operatie-technieken. Daarnaast zal aangegeven worden op welke wijze de resultaten van de experimenten uit dit proefschrift worden weergegeven en welke statistische toetsen gebruikt zijn. Aan het eind van het hoofdstuk worden de omzwervingen van de mannelijke rat in de kruisvormige woonkooi beschreven, in situaties waarbij wel en in situaties waarbij geen stimulusdieren aanwezig waren. Allereerst zullen de principes van door andere auteurs gebruikte methoden om toenaderingsgedrag te bestuderen in het kort besproken worden.

DOOR ANDERE AUTEURS GEBRUIKTE METHODEN

Het gebruik van een kruisvormige woonkooi om aantrekkelijkheid en appetitief gedrag te meten is betrekkelijk nieuw [de Greef & Merks 1982]. Zoals in hoofdstuk 2 is aangegeven, werd er aan het begin van deze eeuw al onderzoek verricht naar de fase die aan de copulatie voorafgaat [zie bijvoorbeeld Nissen 1929, die de zogenaamde "contractation drive" bestudeerde]. In de loop der tijd zijn er een aantal methoden ontwikkeld om het toenaderingsgedrag tussen dieren te bestuderen.

Grofweg zijn deze onder te verdelen in 3 hoofdvormen: de obstructie methode, het T-vormige doolhof en de vrije veld methode. De opvattingen over de oorzaken van gedrag hebben in de loop van deze eeuw veranderingen ondergaan. In de keuze en ontwikkeling van methoden om toenaderingsgedrag te meten komen deze opvattingen tot uiting. Zo schrijft Nissen [1929, p 456] dat hij de obstructie methode gebruikt heeft om de grootte te bepalen van "the strength of the internal stimulation (motivation) causing the test animal to cross an obstruction (constant electric shock) in order to reach a sexually active animal of the opposite sex". Het T-vormige doolhof is ontwikkeld binnen het idee van de leertheorieën. Kagan [1955] gebruikte dit doolhof "to determine whether different degrees of sexual stimulation ... would have different amounts of reward value as measured by the learning in the T-maze". De vrije veld methoden gaan uit van een interactie tussen interne en externe factoren die gedrag bepalen. Hetta en Meyerson [1978] onderzochten in een vrije veld situatie het seksuele toenaderingsgedrag van de mannelijke rat. Dit toenaderingsgedrag vatten zij op als een uiting van de "seksuele motivatie" van de rat. Over dit begrip "motivatie" zeggen zij dan het volgende "the processes responsible for sexual motivation are a result of the interaction between sensory stimuli and hormonal influences both acting on inherent and acquired central integrative processes" [Hetta & Meyerson 1978, p 5].

In de experimenten, die in dit proefschrift beschreven worden, is gebruik gemaakt van een kruisvormige woonkooi (zie figuren 3-1 en 3-2), die zich van de eerder genoemde methoden onderscheidt door het feit dat de dieren deze kooi als woonruimte hebben. De omzwervingen van de ratten kunnen in deze kunstmatige omgeving gedurende langere tijd gevolgd worden zonder dat de dieren gestoord worden.

Voor een beter begrip van de verschillen tussen de drie

eerder genoemde methoden onderling en het verschil met de kruiskooi zullen deze drie verschillende methoden nader besproken worden.

Obstructie methode

De obstructie methode is een van de oudste methoden om bij proefdieren gedragingen te onderzoeken die aangeduid worden als onderdeel van appetitief gedrag en aantrekkelijkheid (zie hoofdstuk 2). Moss [1924] beschreef het basisprincipe van deze methode. Aan één zijde van een smalle gang wordt een rat geplaatst in het zogenaamde startkooitje. Halverwege deze gang bevindt zich een rooster waarop een elektrische spanning gezet kan worden. Aan het andere einde van deze gang bevindt zich het zogenaamde doelkooitje, dat bijvoorbeeld voer, water of een ander dier kan bevatten. De stroomsterkte die de rat bereid is te weerstaan om het doelkooitje te bereiken wordt als maat genomen voor motivatie (waarmee "the strength of the internal stimulation" bedoeld werd [Nissen 1929]). Door de groep rond Warden werd deze opstelling gebruikt met een constante spanning op het rooster: het aantal malen dat een proefdier het rooster in een periode van 20 minuten overstak, werd als maat voor de motivatie van het dier om zijn doel te bereiken gebruikt [Jenkins, Warner & Warden 1926]. Deze "Columbia Obstruction Method" is gebruikt om verschillende soorten "drives" te meten [Warden 1931].

Warner [1927], Jenkins [1928] en Nissen [1929] gebruikten deze opstelling -met een constante elektrische spanning op het rooster- om de "sex-drive" bij ratten te meten. Stone [1939] omschrijft deze "drive" als volgt: "sexual drive is ... used ... to denote aroused action tendencies in animals to respond to objects of their external environment that ... lead to satisfaction or allevation of dominant physiological 'urges'".

associated with reproduction". Nissen [1929] gebruikte deze methode met een mannelijke rat als looppier en een brongstige vrouwelijke soortgenoot in het doelkooitje. Hij vond dat castratie een negatief effect had op de bereidheid van het mannetje om het rooster over te steken ten einde in contact te kunnen komen met de brongstige rat. Toediening van extracten van de placenta van een koe leidde tot een toename in de frequentie van oversteken.

In 1973 gebruikten Meyerson en Lindström een variant op deze Columbia Obstruction Method. Telkens wanneer de rat het rooster was overgestoken voerden zij de elektrische spanning iets op. Zo konden zij bepalen "how much of an aversive stimulus the subject (in dit geval een vrouwelijke rat) is willing to overcome to reach sexual contact".

Een andere variant van de Columbia Obstruction Method bestaat uit het weglaten van het rooster dat onder spanning staat. De lengte van de gang wordt dan als obstructie beschouwd: de snelheid waarmee het dier deze gang afloopt om het doelkooitje te bereiken wordt dan als maat voor de motivatie gebruikt. Deze "straight run way" is evenals het hierna te bespreken T-vormige doolhof veel gebruikt binnen het kader van de zogenaamde leertheorieën. Zo onderzochten Sheffield, Wulff en Backer [1951] de "reward value of copulation" en onderzochten Hill en Thomas [1973] "the role of reinforcement in the sexual behavior of the female rat" met deze methode. Beach en Jordan [1956] onderzochten bij de mannelijke rat "the effects of sexual reinforcement".

Inherent aan de obstructie methode is dat de rat het gedrag dat gemeten gaat worden eerst zal moeten aanleren. Hij moet leren dat hij het gangetje moet doorlopen om bij "zijn" doel te komen. Effecten van hormonale manipulaties op dit leergedrag zijn nauwelijks onderzocht [zie het overzichtsartikel van Beatty 1979]. Bij methoden waar een elektrische spanning overwonnen

moet worden is het bovendien niet uitgesloten dat geslachtshormonen effecten hebben op de gevoeligheid van ratten voor die elektrische spanning op het rooster. Voorts is bekend dat een kortdurende elektrische schok bij mannelijke ratten onder bepaalde testomstandigheden een faciliterend effect kan hebben op het copulatiegedrag [Barfield & Sachs 1970; Goldfoot & Baum 1972; Meisel, Lumia & Sachs 1980].

T-vormige doolhof

Een veel gebruikte opstelling is het T-vormige doolhof. Aan het been van de T bevindt zich het zogenaamde startkooitje. Hierin wordt de te onderzoeken rat geplaatst. Nadat de rat vanuit dit startkooitje het been van de T heeft doorlopen moet hij een keuze maken om de linker of de rechter arm van de T in te lopen. Aan het einde van beide armen van de T bevinden zich doelkooitjes waarin stimulusdieren zitten. Wanneer de rat een van de twee armen in loopt valt er een deurtje dicht zodat hij niet meer terug kan. Bereikt de rat tenslotte het doelkooitje, dan kan er eventueel als "beloning" een copulatie plaatsvinden met het stimulusdier. In het T-vormige doolhof zijn de "belonende" effecten van vooral copulatiegedrag op de keuze die een rat in het doolhof maakt bestudeerd (zoals te verwachten is bij een apparaat dat ontwikkeld is binnen de zogenaamde leertheorieën). Ter illustratie: de titel van een artikel van Whalen [1960], waarin hij het T-vormige doolhof gebruikte, luidt: "Effects of mounting without intromission and intromission without ejaculation on sexual behavior and maze learning".

Le Magnen [1952b] gebruikte een gewijzigde versie van het T-vormige doolhof om de voorkeur van de rat te bepalen voor de geur van één van twee stimulusdieren. De twee doelkooitjes verving hij door twee glazen cilinders, met een diameter van 8,6 cm en een lengte van 20 cm. Deze cilinders waren aan weerszijden

afgesloten met gaas en houtwol. Een luchtstroom werd via deze cilinders, waarin hij een stimulusdier plaatste, in een van de twee armen van het T-vormige doolhof geblazen. In tegenstelling tot andere onderzoeken in het T-vormige doolhof kregen de te onderzoeken dieren in zijn experimenten geen gelegenheid tot copulatie met een stimulusdier.

Een variant op het T-vormige doolhof is het zogenaamde Y-vormige doolhof zoals gebruikt is door Meyerson en Lindström [1973], Gilman en Westbrook [1978] en later ook door De Jonge en Van de Poll [1986]. Ook in dit doolhof volgt op een "juiste" keuze een "seksuele beloning" (sexual reward). Terwijl eerdere onderzoekers vooral geïnteresseerd waren in de effecten van copulatie op de keuze van de rat in dat doolhof, onderzochten Meyerson en Lindström [1973], en later ook De Jonge en Van de Poll [1986] effecten van hormonale manipulaties op het keuzegedrag van ratten in het Y-vormige doolhof.

Evenals bij de obstructie methode moet het gedrag in het T- of Y-vormige doolhof geleerd worden. Effecten van hormonen op het proces van leren en op dit aangeleerde gedrag kunnen interfereren met effecten van hormonen op de voorkeur [Beatty 1979]. Daarnaast hebben geslachtshormonen effecten op het "exploratiegedrag" van ratten [Martin & Bättig 1980; Slob, Bogers & van Stolk 1981].

Vrije veld methode

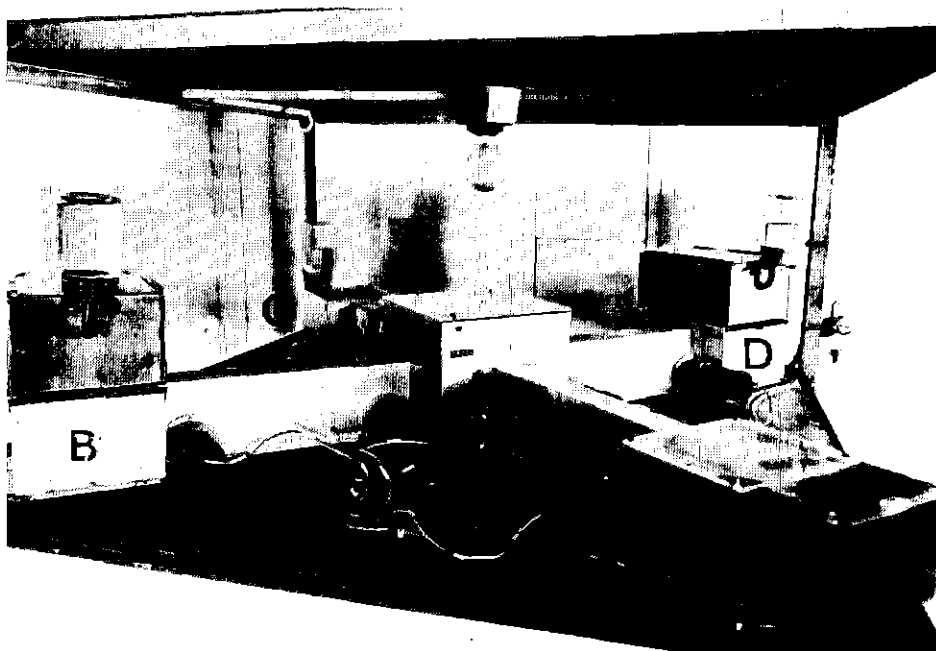
Naast bovengenoemde methoden zijn er vrije veld methoden (open field) in gebruik. Het te onderzoeken dier wordt in een ruimte geplaatst waarin zich geen gangetjes of schotjes bevinden (vrije veld in tegenstelling tot een doolhof). In deze ruimte of aan de zijkanten ervan bevinden zich twee kooitjes waarin stimulusdieren kunnen zitten. De tijd die het dier in een bepaald gebied rond de stimuluskooitjes doorbrengt wordt gemeten

of het aantal malen dat dit gebied wordt binnengetreden wordt geteld [Carr, Loeb & Dissinger 1965; Stern 1970; Meyerson & Lindström 1973; Hetta & Meyerson 1978; Thody & Dijkstra 1978]. Een voordeel van deze techniek is dat het te observeren gedrag niet geleerd hoeft te worden. Door de constructie van het apparaat wordt er geen keuze aan het dier opgelegd. Evenals bij de eerder genoemde methoden wordt het te onderzoeken dier slechts gedurende een korte tijd geobserveerd. Het is bekend dat geslachtshormonen invloed hebben op de loopactiviteit van ratten [Beatty 1979]. Effecten hiervan komen het duidelijkst tot uiting gedurende korte testperiodes [Russell 1977].

BESCHRIJVING VAN DE KRUISKOOI

In de experimenten die in dit proefschrift beschreven worden, is gebruik gemaakt van een kruisvormige woonkooi (zie figuren 3-1 en 3-2). Deze kruisvormige woonkooi zal in het vervolg kortweg aangeduid worden als de kruiskooi. Het principe van deze kooi werd voor het eerst beschreven door Barnett, Cockroft en Smart [1966]. De kruiskooi, waarin de experimenten van dit proefschrift zijn uitgevoerd, is een iets gewijzigde versie van de kooi zoals die beschreven is door Schenck, van de Giessen, Slob en van der Werff ten Bosch [1978].

Vanuit een centrale ruimte E heeft de rat (het loopdier) via 30 cm lange gangetjes toegang tot 4 eindkooitjes (A, B, C en D). In eindkooitje A is water beschikbaar. Aan eindkooitje C hangt een voerbakje waarin zich rattenbrokken bevinden; deze zijn gemalen om te voorkomen dat het loopdier met brokken elders in de kruiskooi voedselvoorraden en daarmee oneigenlijke voerplaatsen gaat aanleggen. Op de eindkooitjes B en D zit een kooitje gemonteerd (in de versie van Schenck, van de Giessen, Slob en van der Werff ten Bosch [1978] ontbraken deze kooitjes).

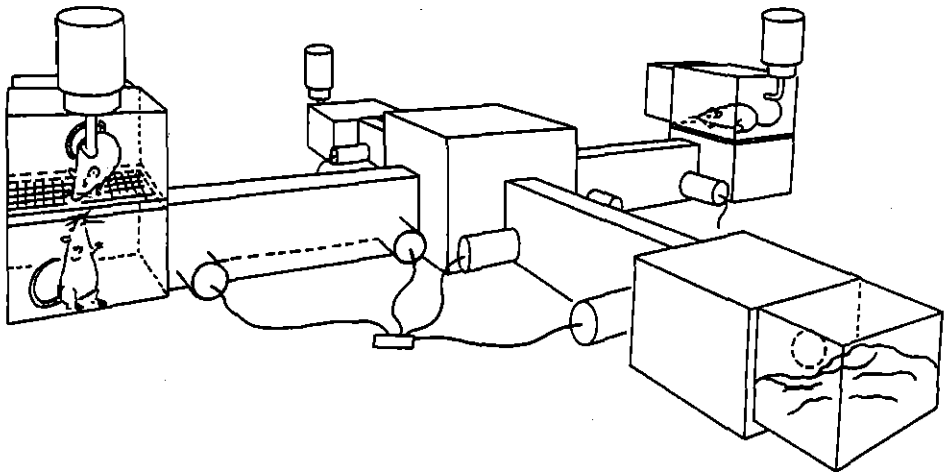


Figuur 3-1.

Foto van een kruiskooi, bestaande uit een centrale ruimte van waaruit 4 armen toegang geven tot de eindkooitjes A tot en met D. In de kooitjes boven op eindkooitjes B en D kunnen stimulusdieren geplaatst worden. Aan eindkooitje A hangt een voerbakje; op eindkooitje C staat een waterfles. Boven de centrale ruimte bevindt zich een gloeilamp van 40 watt. De fotodetectoren (2 per arm) zijn te zien.

In dit kooitje kan een stimulusdier gezet worden. Omdat de bodems van deze stimuluskooitjes van gaas zijn, is communicatie mogelijk via alle zintuigen tussen stimulusdier en looppier; lichamelijk contact is slechts zeer beperkt mogelijk. Ook de overige bodems van de kruiskooi zijn van gaas, alleen de bodem van de centrale ruimte bestaat uit een plaatje aluminium. De centrale ruimte, de eindkooitjes A en C en de stimuluskooitjes hebben transparante perspex bovenzijden, terwijl de bovenzijden van de armen en alle zijkanten uit aluminium bestaan. Boven de centrale ruimte hangt een 40 watt daglichtlamp die aan is van

7.00 uur tot 21.00 uur. De omzwervingen van het looppier worden door middel van fotodetectoren (2 per arm; zie figuren 3-1 en 3-2) doorgegeven aan een microprocessor (voor uitgebreidere technische details zij verwezen naar Schenck et al [1978]). Op een ponsband worden gegevens vastgelegd. Uit deze gegevens kan informatie verkregen worden over het tijdstip, de duur en de frequentie van de bezoeken aan ieder eindkooitje. Uit deze gegevens kan ook de volgorde gehaald worden waarin een looppier de diverse eindkooitjes bezoekt. Van deze laatste mogelijkheid is in dit onderzoek geen gebruik gemaakt.



Figuur 3-2.
Schematische tekening van de kruiskooi. Duidelijk is te zien dat het looppier door de gazen bodem het stimulusdier kan zien, horen en ruiken maar dat lichamelijk contact slechts beperkt mogelijk is.

De kruiskooi onderscheidt zich van de eerder in dit hoofdstuk besproken testsituaties door het feit dat deze kooi bedoeld is als woonkooi voor het te onderzoeken dier. Zowel het looppier als het stimulusdier worden in hun woonomgeving getest. Effecten

die worden gevonden zijn niet beïnvloed door overplaatsing van de woonkooi naar een vreemde testruimte. Dag en nacht verschillen kunnen worden bestudeerd, alsmede het verloop in de tijd (zowel binnen een etmaal als binnen een periode die meerdere etmalen omvat). Bovendien wordt er een gedrag geregistreerd dat niet hoeft te worden aangeleerd.

Door andere onderzoekers is de kruiskooi gebruikt als instrument om de locomotore activiteit bij kleine proefdieren te meten. Zo zijn effecten van ondervoeding van jonge ratten op hun locomotore activiteit onderzocht [Barnett, Smart & Widdowson 1971; Slob 1972; Slob, Snow & de Natris-Mathot 1973; Schenck, Slob & van der Werff ten Bosch 1978]. Pelt [1972] heeft de kruiskooi gebruikt om effecten van tijdelijke afwijkingen in de normale schildklierfunctie kort na de geboorte op de locomotore activiteit bij ratten te onderzoeken. Cowan [1976; 1977] onderzocht het effect van nieuwe voorwerpen die in de kruiskooi geplaatst werden op de locomotore activiteit bij ratten. Schenck et al [1978] beschreven de invloed van de ovariële cyclus van een intacte vrouwelijke rat op haar locomotore activiteit. De eerste publicatie waarin de kruiskooi is gebruikt als instrument om aantrekkelijkheid van vrouwtjes te bepalen door het verloop in de verblijfsduur van mannetjes bij deze stimulusvrouwtjes te volgen stamt uit 1982 [de Greef & Merkx 1982].

Het is in de kruiskooi niet zonder meer duidelijk waarom een loopdier op een bepaald tijdstip langer in de nabijheid van een stimulusdier zit dan op andere momenten, omdat in de kruiskooi alleen verblijfsduren en excursies geregistreerd worden terwijl er geen andere gedragsobservaties verricht worden. We veronderstellen echter dat wanneer een mannelijke rat op een bepaald moment een voorkeur heeft voor de nabijheid van een bronstig stimulusdier, er sprake is van een "seksuele voorkeur" of "partnerkeuze", hoewel copulatie niet mogelijk is.

GEBRUIKTE PROEFDIEREN

In alle experimenten werden Wistar ratten gebruikt: F₁ nakomelingen van twee inteelt stammen (R en U). Vanaf de 21-ste dag na de geboorte verbleven zij in isoseksuele groepen van 3 tot 5 dieren. Bij de aanvang van de observatieperioden waren de dieren tussen drie en vijf maanden oud. Zowel de loofdieren als de stimulusdieren hadden op volwassen leeftijd nooit heteroseksuele paringservaring: ze waren seksueel "naef".

Bij gebruik van geovariectomeerde dieren als stimulusdieren, waren deze ongeveer 3 weken voor de aanvang van het experiment geopereerd. Operaties en bloedafnames gebeurden steeds onder ethernarcose. In experimenten met intacte vrouwtjes werden met behulp van een 0se uitstrijkjes van het vaginaal epitheel gemaakt om het stadium van de ovariële cyclus te bepalen [Long & Evans 1922]. Dit gebeurde altijd omstreeks 10 uur 's morgens en doorgaans op 5 dagen in de week.

WEERGAVE VAN RESULTATEN IN GRAFIEKEN

De verblijfsduren van de loofdieren in de diverse eindkooitjes worden weergegeven in histogrammen, die de gemiddelde verblijfsduur en de standaardfout (SEM) weergeven. Het aantal excursies wordt weergegeven in de vorm van een polygoon, die het gemiddelde ($\pm$ SEM) aantal excursies van de experimentele groep weergeeft.

In iedere figuur zijn gegevens verwerkt die afkomstig zijn van groep(en) ratten gedurende dezelfde registratieperioden. Soms is in een figuur het gemiddelde weergegeven van een aantal (c) cycli of behandelingsperioden. In ieder figuur is het aantal (n) loofdieren vermeld. Binnen een figuur kan het aantal (n) dieren waarop de grafieken betrekking hebben verschillend zijn.

Dit is meestal het gevolg van een klein defect in de apparatuur. Veelal was er dan één van de 64 lampjes in de fotodetectoren kapot of was er een onderbreking in een van de 384 kabeltjes naar de fotodetectoren. Bij het gebruik van intacte stimulusvrouwtjes kan ook onduidelijkheid over de exacte dag van bronst een oorzaak zijn van een verschillend aantal dieren per grafiek.

GEBRUIKTE STATISTISCHE METHODEN

Analyse van de resultaten toonde dat er grote verschillen in aantallen excursies en verblijfsduren tussen de dieren onderling waren. Ook de registraties bij individuele dieren vertoonden grote verschillen tussen diverse vergelijkbare dagen. Besloten is om gebruik te maken van verdelingsvrije toetsen. Deze toetsen zijn geschikt voor kleine steekproeven, waarin veel uitschieters voorkomen en waarbij geen normale verdeling verondersteld kan worden. Het onderscheidend vermogen van deze verdelingsvrije toetsen is kleiner dan van overeenkomstige toetsen, die wel uitgaan van een normale verdeling [de Jonge 1958]. Alleen in hoofdstuk 4 is een parametrische toets gebruikt, die in dat hoofdstuk besproken zal worden.

De toets van Friedman [de Jonge 1960; Daniel 1978] werd gebruikt om de nulhypothese te toetsen dat

1. binnen een experimentele groep de gevonden aantallen excursies naar of verblijfsduren in een eindkooitje geen verschillen vertoonden gedurende opeenvolgende registratieperiodes (meestal de gegevens van opeenvolgende nachten);
2. binnen een experimentele groep geen verschil in gevonden waarden tussen de vier eindkooitjes was.

De (rang)tekentoets [de Jonge 1960] werd gebruikt om de

nulhypothese te toetsen dat binnen een experimentele groep geen verschil bestond in de gevonden waarden van 2 eindkooitjes gedurende dezelfde registratieperiode.

De toets van Kruskal en Wallis [de Jonge 1960; Daniel 1978] werd gebruikt om de nulhypothese te toetsen dat de gevonden waarden voor hetzelfde eindkooitje tussen meer dan twee experimentele groepen gelijk waren.

De twee steekproeven-toets van Wilcoxon [de Jonge 1960] werd gebruikt om de nulhypothese te toetsen dat gevonden waarden voor hetzelfde eindkooitje bij twee experimentele groepen gelijk waren.

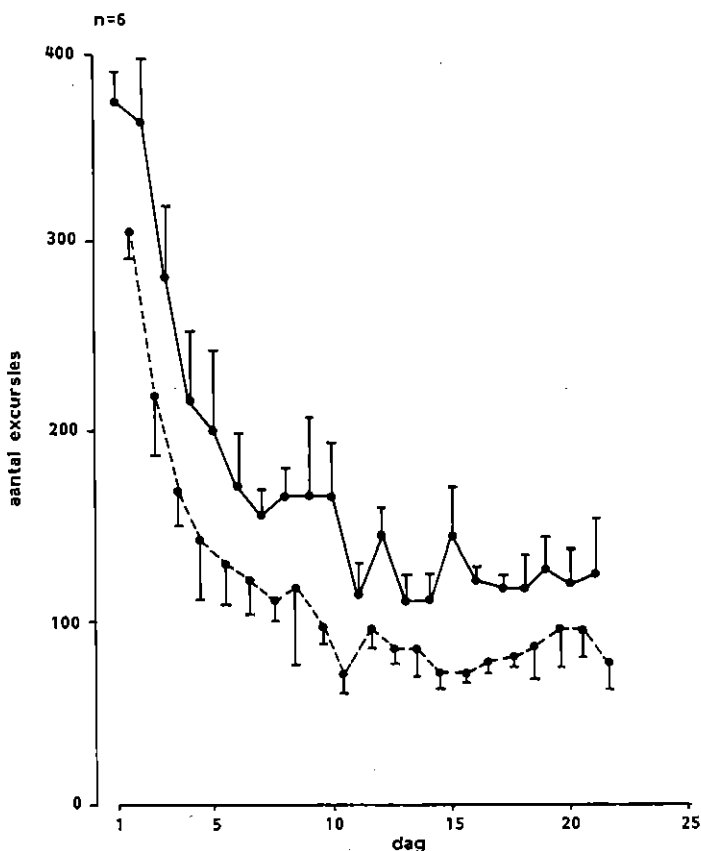
Er werd altijd tweezijdig getoetst; niet significant betekent $p > 0.05$.

HET GEDRAG VAN DE RAT IN DE KRUISKOOI

Om inzicht te krijgen in de omzwervingen van de rat in de kruiskooi zijn een aantal registraties gedaan zonder stimulusdieren en een aantal registraties met geovariectomeerde vrouwtjes als stimulusdieren in de daarvoor bedoelde kooitjes. Als looppieren zijn steeds intacte volwassen mannetjes gebruikt.

De excursies

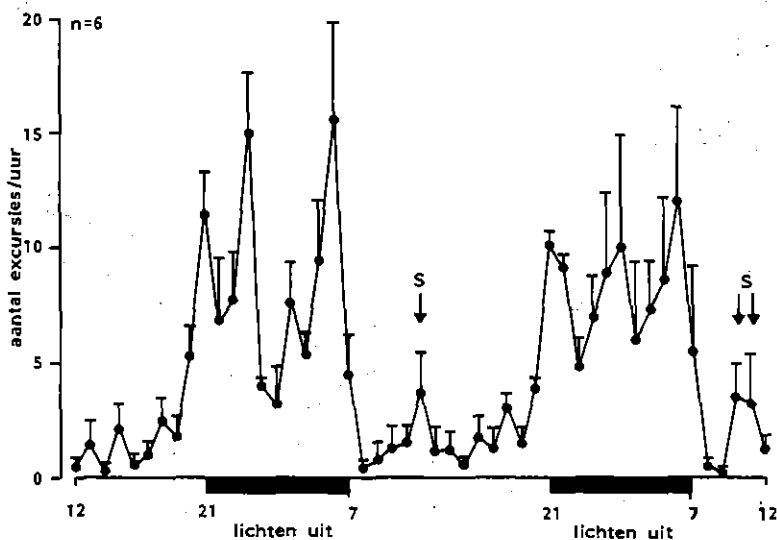
In figuur 3-3 zijn de gemiddelde aantallen excursies die een groep van 6 mannetjes gedurende de eerste 22 dagen van hun verblijf in de kruiskooi naar alle vier de eindkooitjes maakten, weergegeven, terwijl in de stimuluskooitjes geovariectomeerde onbehandelde vrouwtjes verbleven. De eerste 10 dagen en nachten daalt het aantal excursies naar alle vier de eindkooitjes. Vanaf dag 10 blijft het aantal excursies naar de vier eindkooitjes vrijwel constant. In de figuur is te zien dat de dieren vooral



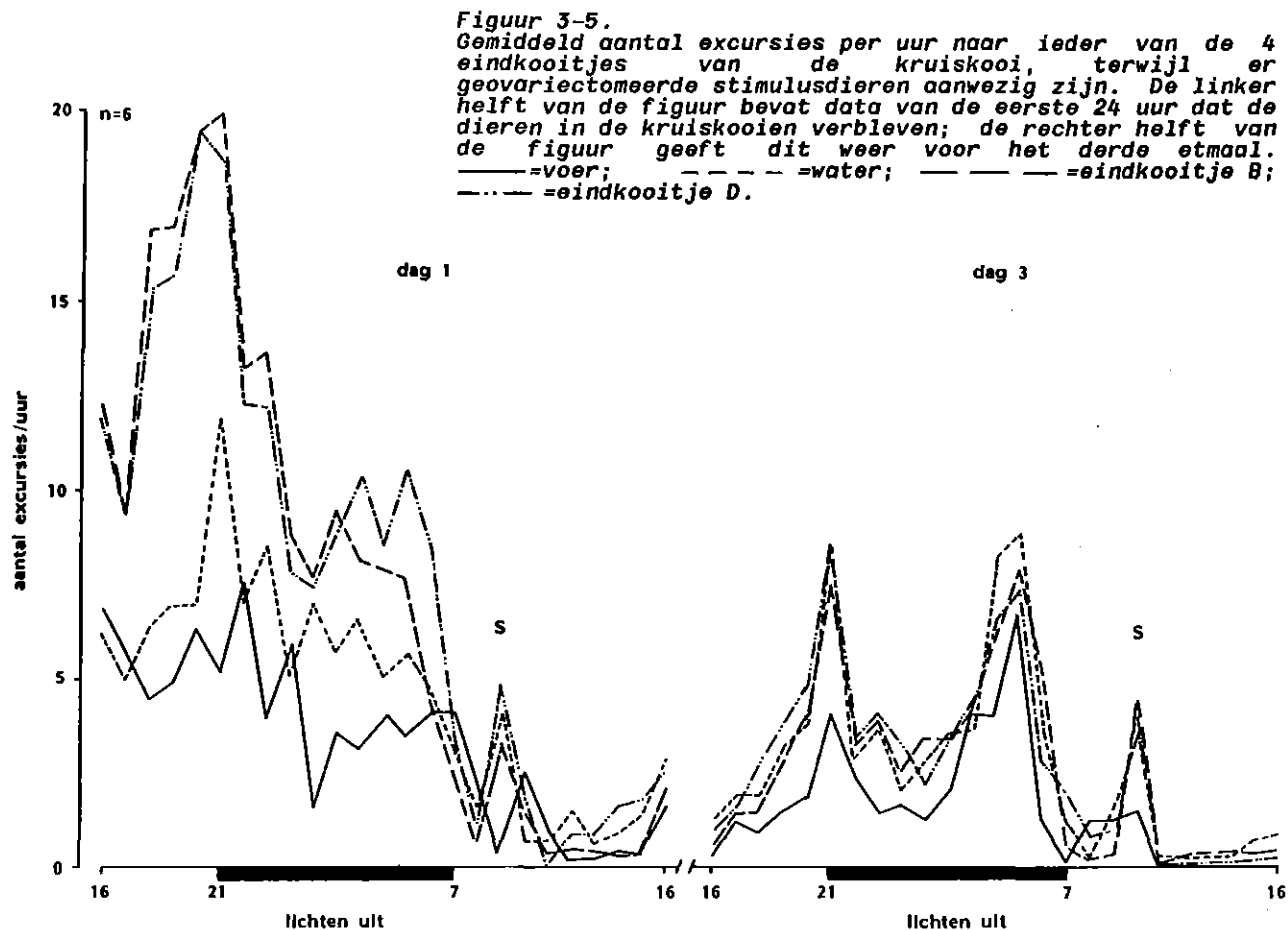
Figuur 3-3.
 Gemiddeld ($\pm$ SEM) aantal excursies naar de vier eindkooitjes van de kruiskooi gedurende een 22 dagen durend experiment. In de stimuluskooitjes zijn geovariectomeerde vrouwtjes aanwezig.
 — per etmaal (00.00-24.00 uur) - - - - per donkerperiode (21.00-7.00 uur)

in de nacht actief zijn. Figuur 3-4 laat dit duidelijker zien: daar is van dezelfde groep ratten de verdeling van de excursies per uur weergegeven gedurende twee etmalen. In de nacht zijn de mannetjes het meest actief, hetgeen op grond van de literatuur te verwachten valt [Larsson 1958; Peacock, Hodge & Thomas 1966; Evans 1971; Richter 1971]. Vanaf de tweede nacht dat de dieren in hun kruiskooi verbleven was er een patroon in de

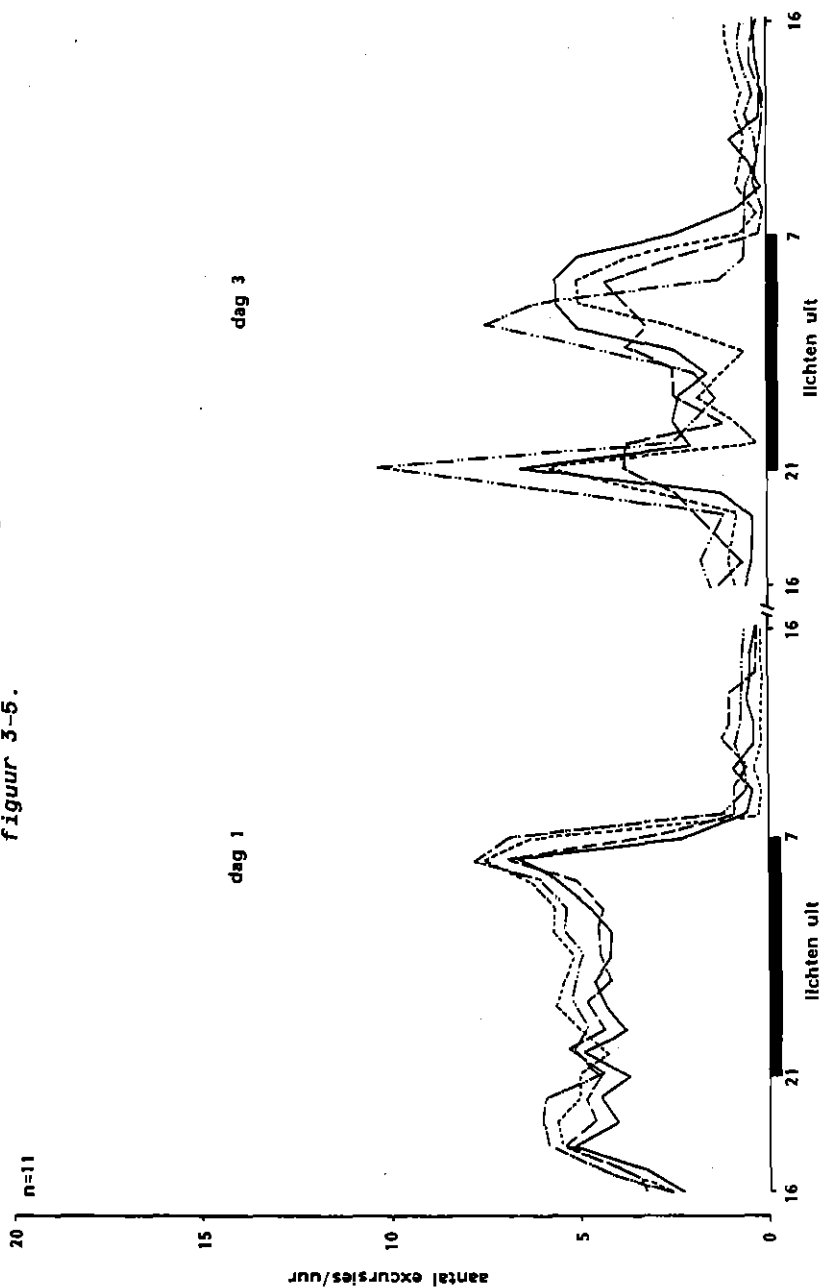
loopactiviteit, zoals in figuur 3-4, waar te nemen. Direct na het doven en vlak voor het aangaan van de lichten is er een piek in het aantal excursies te zien. Ook Barnett, Smart en Widdowson [1971] beschreven deze pieken in loopactiviteit. Deze pieken in het aantal excursies zijn door ons ook waargenomen wanneer er geen stimulusdieren in de kooitjes aanwezig zijn. Ook is in figuur 3-4 duidelijk te zien dat de dieren gedurende de lichtperiode weinig loopactiviteit vertonen. De piek bij de pijlen wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van de verzorger in de ruimte waar de kruiskooien stonden opgesteld; in het weekend trad deze piek niet op.



Figuur 3-4. Gemiddeld ($\pm$ SEM) aantal excursies per uur naar de vier eindkooitjes van de kruiskooi gedurende twee etmalen. De mannelijke loopdieren verbleven reeds enige tijd in de kruiskooi. De pijlen (S) geven het moment aan waarop een verzorger in de ruimte waarin de kruiskooien opgesteld waren, aanwezig was.



Figuur 3-6.
 Gemiddeld aantal excursies per uur naar ieder van de 4
 eindkooities van de kruiskooi, terwijl er geen
 stimulusdieren aanwezig zijn. Zie verder toelichting bij
 figuur 3-5.



De figuren 3-5 en 3-6 laten de excursies naar de vier eindkooitjes zien gedurende het eerste etmaal (dag 1) en het derde etmaal (dag 3) dat de dieren in de kruiskooi aanwezig zijn. De gegevens uit figuur 3-5 hebben betrekking op dezelfde groep mannetjes als in de figuren 3-3 en 3-4, waarbij geovariectomeerde vrouwtjes als stimulusdier aanwezig waren. De gegevens uit figuur 3-6 zijn afkomstig van een experiment met 11 mannelijke looddieren zonder dat er dieren in de stimuluskooitjes aanwezig waren. Het valt op dat wanneer er stimulusdieren boven de eindkooitjes B en D aanwezig zijn, mannetjes deze eindkooitjes gedurende de eerste dag van hun verblijf in de kruiskooi met een grotere frequentie bezochten dan wanneer er geen stimulusdieren aanwezig waren. Gedurende de derde dag werden alle vier eindkooitjes met nagenoeg dezelfde frequentie bezocht, in beide experimentele situaties. In tabel 3-1 is het aantal excursies per 24 uur naar de diverse eindkooitjes weergegeven. De gegevens hebben betrekking op registraties bij twee groepen looddieren die reeds langer dan 10 dagen in de kruiskooien aanwezig waren (dus geadapteerd waren; zie figuur 3-3). Wanneer er geen stimulusdieren in de kooitjes aanwezig zijn worden de vier eindkooitjes met nagenoeg gelijke frequentie bezocht (Friedman: $K=21$, ns).

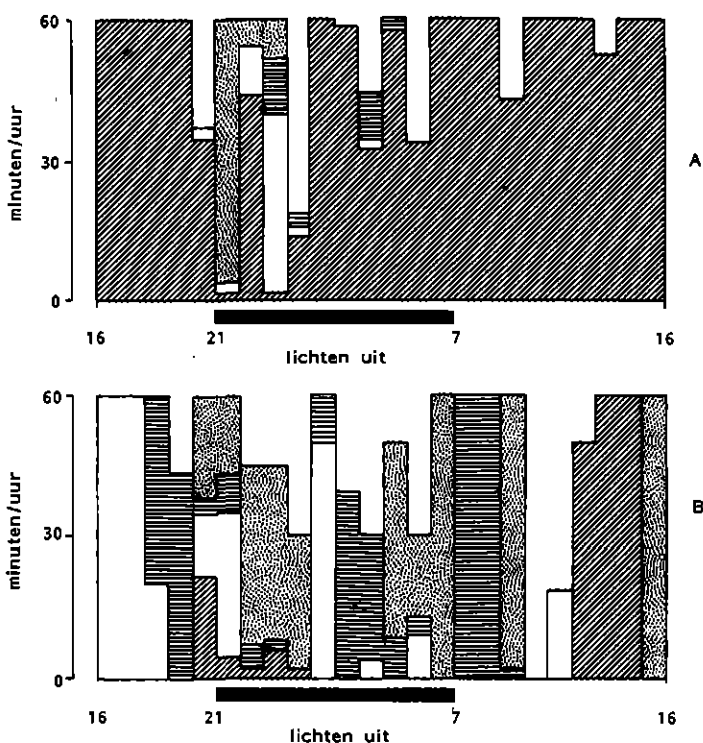
Tabel 3-1.
Gemiddeld (+ SEM) aantal excursies per 24 uur naar de vier eindkooitjes door 2 groepen mannelijke looddieren. Beide groepen mannetjes verbleven langer dan 10 dagen in de kruiskooi.

	Water	Voer	Eindkooitje		
			B	D	
Stimulusdieren aanwezig n=10 d=8	15±1.0	13±1.1	19±1.3	18±0.8	p<0.01
Stimulusdieren afwezig n=12 d=11	15±1.4	15±1.1	17±2.5	17±3.8	ns
	ns	p<0.05	ns	ns	

Aanwezigheid van stimulusdieren leidde ertoe dat de eindkooitjes B en D vaker bezocht werden dan de eindkooitjes A en C, waar respectievelijk water en voer aanwezig was (Friedman: $K=358$, $p<0.01$). Er was geen voorkeur: dat wil zeggen één van de twee stimulusdieren werd niet frequenter bezocht dan het andere dier. Eindkooitje C (voer) werd in aanwezigheid van stimulusdieren minder lang bezocht dan wanneer er geen stimulusdieren aanwezig waren (Wilcoxon: $U=162$, $p<0.05$).

De verblijfsduur

Om een indruk te krijgen waar de dieren zich van uur tot uur ophouden is in figuur 3-7 voor 2 mannelijke looppieren -ze verbleven al langer dan 10 dagen in de kruiskooi- de verblijfsduur in de diverse eindkooitjes per uur uitgewerkt. Er waren geovariectomeerde hormonaal onbehandelde dieren als stimulusdieren aanwezig. Opvallend is dat de dieren gedurende de lichtperiode langer in dezelfde eindkooitjes bleven dan 's nachts. Dier A bleef gedurende bijna de gehele lichtperiode in het eindkooitje waar het water zich bevond. Dier B wisselde in de lichtperiode nog al eens van eindkooitje. In de donkerperiode brachten zowel dier A als B enige tijd in alle eindkooitjes door. Uit de literatuur is bekend dat ratten gedurende de nacht actief zijn en dan ook eten en drinken [Siegel & Stuckey 1947; Zucker 1971; ter Haar 1972] en gedurende de lichtperiode veel slapen [van Twyver 1969; Richter 1971]. Op grond van deze gegevens kan worden geconcludeerd dat dier A in het eindkooitje met water zijn inactieve periode doorbracht en daar niet alleen aanwezig was om te drinken. Gegevens van andere dieren lieten zien dat de variatie in verblijfsduur overdag het grootst is, zowel tussen de dieren onderling als bij een individueel dier op verschillende dagen: de dieren lijken op een toevallige plaats te verblijven om te slapen.

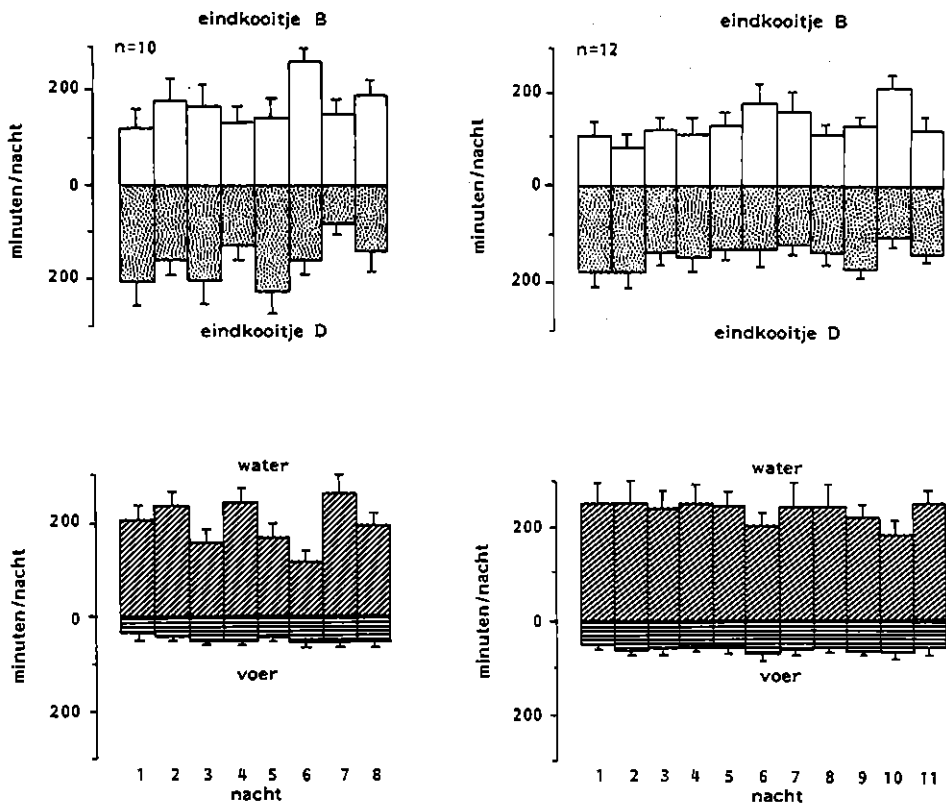


Figuur 3-7. Verblifsduur per uur in de vier eindkooitjes gedurende 24 uur van twee mannelijke looppieren (A en B). Boven eindkooitjes B en D zijn onbehandelde geovariectomeerde vrouwtjes als stimulusdieren aanwezig.

▨ = water; ▨ = voer; □ = eindkooitje B; ▨ = eindkooitje D.

De loopactiviteit is overdag nagenoeg nul, terwijl excursies die gemaakt werden vaak veroorzaakt werden door externe verstoringen. Gedurende de donkerperiode werden alle kooitjes met een zekere regelmaat bezocht. In het volgende hoofdstuk zal blijken dat een mannetje vooral 's nachts een voorkeur vertoont om bij een bronstig vrouwtje te verblijven.

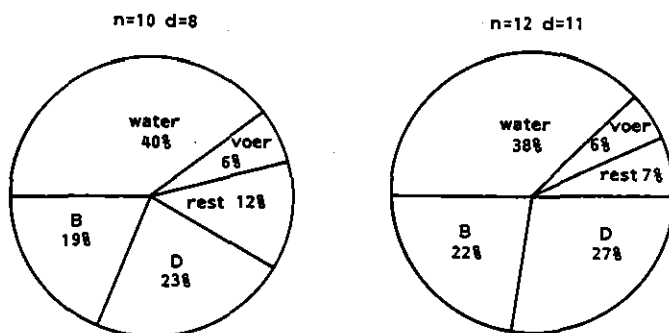
In figuur 3-8 zijn de nachtelijke verblifsduren in de diverse eindkooitjes nader onderzocht bij twee groepen (langer



Figuur 3-8. Gemiddelde ($\pm$ SEM) verblijfsduur gedurende de donkerperiode in de vier eindkooitjes van de kruiskooi. De linker helft heeft betrekking op een situatie waarbij geovariectomeerde stimulusdieren aanwezig zijn. De rechter helft heeft betrekking op een situatie zonder stimulusdieren.

dan 10 dagen geadapteerde) ratten. Indien er géén stimulusdieren aanwezig waren (rechterhelft van figuur 3-8), was er geen verschil tussen de verblijfsduren in de beide eindkooitjes waarboven een stimulusdier kon zitten (rangtekentoets uitgevoerd op de totale nachtelijke verblijfsduren: $V=18$, ns). Uit figuur 3-8 blijkt tevens dat het water 's nachts het langdurigst bezocht werd en dat de minste tijd doorgebracht werd in het eindkooitje met het voerbakje.

Aanwezigheid van geovariectomeerde stimulusdieren (linkerhelft van figuur 3-8) had geen invloed op de tijdsbesteding van het looppier in de eindkooitjes B en D in vergelijking met de verblijfsduur in die eindkooitjes zonder stimulusdieren (Wilcoxon eindkooitje B: $U=126$, ns; eindkooitje D: $U=118$, ns). Ook wanneer er stimulusdieren boven eindkooitjes B en D zaten was er geen verschil in verblijfsduur tussen de beide eindkooitjes (rangtekentoets, uitgevoerd op de totalen van alle nachten: $V=17$, ns).



Figuur 3-9.

Relatieve verblijfsduren in de vier eindkooitjes van de kruiskooi. Het linker cirkeldiagram heeft betrekking op een situatie met geovariectomeerde stimulusdieren boven de eindkooitjes B en D. Het rechter cirkeldiagram heeft betrekking op een situatie zonder stimulusdieren.

De cirkeldiagrammen in figuur 3-9 geven een overzicht van de relatieve tijdsbesteding in de diverse eindkooitjes gedurende 24 uur, respectievelijk in aanwezigheid en afwezigheid van stimulusdieren.

SAMENVATTING

In dit hoofdstuk is het principe van de kruiskooi beschreven. Ook andere methoden om aantrekkelijkheid en appetitief gedrag bij ratten te meten zijn beschreven. Het belangrijkste verschil tussen de kruiskooi en andere methoden is het feit dat de kruiskooi als woonkooi dient.

Het is gebleken dat het niveau van locomotore activiteit gedurende de eerste tien dagen van het verblijf van mannelijke ratten in de kruiskooi afneemt, om na de tiende dag op een constant niveau te blijven: na 10 dagen zijn de ratten geadapteerd aan de kruiskooi. Gedurende de lichtperiode zijn de ratten weinig actief en lijken op willekeurige plaatsen in de kooi te verblijven. 's Nachts zijn de dieren meer actief, met een piek in activiteit direct na het uitgaan en een piek vlak voor het aangaan van de lichten.

Wanneer er in de stimuluskooitjes geovariectomeerde hormonaal onbehandelde vrouwtjes zitten vertonen mannelijke looldieren geen voorkeur voor één van de beide eindkooitjes (noch wat betreft verblijfsduur, noch wat betreft het aantal excursies). Het eindkooitje waarop de waterfles zit wordt het langdurigst bezocht, terwijl het eindkooitje met het voer het minst langdurig bezocht wordt.

HOOFDSTUK 4

KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT DE GEDURENDE CYCLUS VAN HET VROUWTJE.

INLEIDING

Een volwassen vrouwelijke rat zal slechts eenmaal in de vier à vijf dagen gedurende een beperkt aantal uren paringsgedrag vertonen; ze heet dan in bronst te zijn. Gedurende deze bronst zal zij initiatieven nemen om te copuleren en zal zij beklimmingen en intromissies door het mannetje mogelijk maken [Calhoun 1962; McClintock & Anisko 1982; McClintock, Anisko & Adler 1982]. In het gedrag van de vrouwelijke rat tijdens de paring kunnen drie belangrijke componenten onderscheiden worden [Beach 1976]: haar aantrekkelijkheid, haar proceptiviteit en haar receptiviteit (zie voor deze begrippen hoofdstuk 2).

In dit hoofdstuk zal onderzocht worden op welke wijze de aantrekkelijkheid van een bronstige vrouwelijk rat het keuzegedrag van een mannelijke soortgenoot in de kruiskooi beïnvloedt. Hiertoe zal het keuzegedrag van een mannelijk loopdier in de kruiskooi geregistreerd worden gedurende de ovariële cyclus van een stimulusdier. Het lijkt aannemelijk dat een mannelijke rat op de bronst van een vrouwelijke rat zal reageren door haar vaak of langdurig te bezoeken. Immers, voor de voortplanting (dus ook voor het voortbestaan van de soort) is deze toenadering onontbeerlijk.

Uit de literatuur komt niet duidelijk naar voren of een mannelijke rat heteroseksuele paringservaring moet hebben om de bronst van een vrouwelijk soortgenoot als aantrekkelijk te ervaren. Le Magnen [1952b] beschreef dat in het door hem gebruikte T-vormige doolhof mannelijke ratten zonder heteroseksuele paringservaring vaker de arm bezochten waarin de geur van een bronstig vrouwtje werd geblazen dan de arm waarin de geur van een niet-bronstig vrouwtje werd geblazen. Carr, Loeb en Dissinger [1965] vonden alleen bij mannelijke ratten met paringservaring een voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Zij testten de dieren in een vrije veld situatie. In deze ruimte werden twee hard-board cilindertjes geplaatst waarin of een bronstig of een niet-bronstig stimulusdier was geplaatst. Doordat de uiteinden van deze cilindertjes met gaas en houtwol waren afgesloten, konden de mannetjes de stimulusvrouwtjes niet zien of aanraken, alleen maar horen en ruiken. Ook Stern [1970] maakte gebruik van een soortgelijke opstelling, met als belangrijkste verschil dat er in zijn experimenten een constante luchtstroom door de stimuluskooitjes werd geblazen. Stern [1970] onderzocht in welke mate het mannetje paringservaring diende te hebben om een voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot te tonen. Op grond van zijn experimenten kwam hij tot de conclusie dat beklimervaring zonder intromissie (2 paringstests waarin het mannetje 3 beklimmingen per test werden toegestaan met een bronstig vrouwtje bij wie de vagina chirurgisch gesloten was) noodzakelijk was voor het mannetje om een bronstig vrouwtje te verkiezen boven een niet-bronstig dier.

In het experiment in dit hoofdstuk wordt keuzegedrag onderzocht bij een mannelijke rat die geen heteroseksuele paringservaring heeft.

OPZET

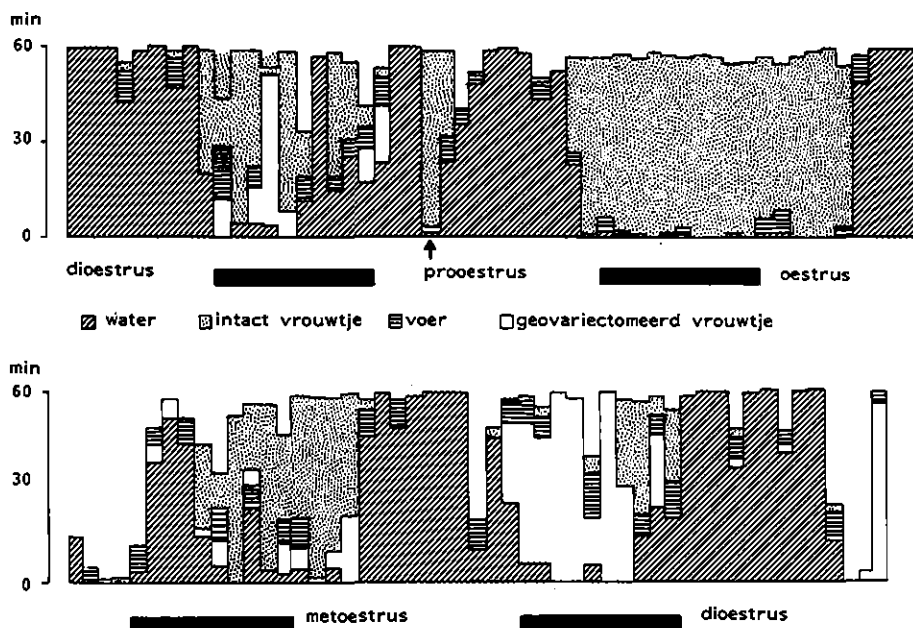
Zes intacte mannelijke ratten, die vanaf de leeftijd van 3 weken in isoseksuele groepen waren opgegroeid, werden op de leeftijd van 3 maanden in de kruiskooi geplaatst. Hun omzwervingen werden gedurende 23 dagen vervolgd. In één van de twee stimuluskooitjes van de kruiskooi bevond zich een intacte vrouwelijke rat; in het andere stimuluskooitje was een geovariectomeerd vrouwtje aanwezig. Vijf tot zes maal per week werd er bij de intacte stimulusvrouwtjes om ongeveer 10.00 uur met behulp van een öse een uitstrijkje gemaakt van het vagina epitheel. De Wistar ratten die gebruikt zijn hebben meestal een bronstcyclus van vijf dagen [van der Schoot & Zeilmaker 1972]. Met behulp van deze ongekleurde uitstrijkjes werd het stadium van de vaginale cyclus bepaald, zoals beschreven is door van der Schoot en Zeilmaker [1972]. In de ochtend na de ovulatie worden deze uitstrijkjes gekenmerkt door verhoornde epitheel cellen. Gedurende de laatste uren van de lichtperiode en gedurende het grootste deel van de donkerperiode die aan dit uitstrijkje voorafgaan is de vrouwelijke rat in bronst [Long & Evans 1922].

RESULTATEN

Verblijfsduur

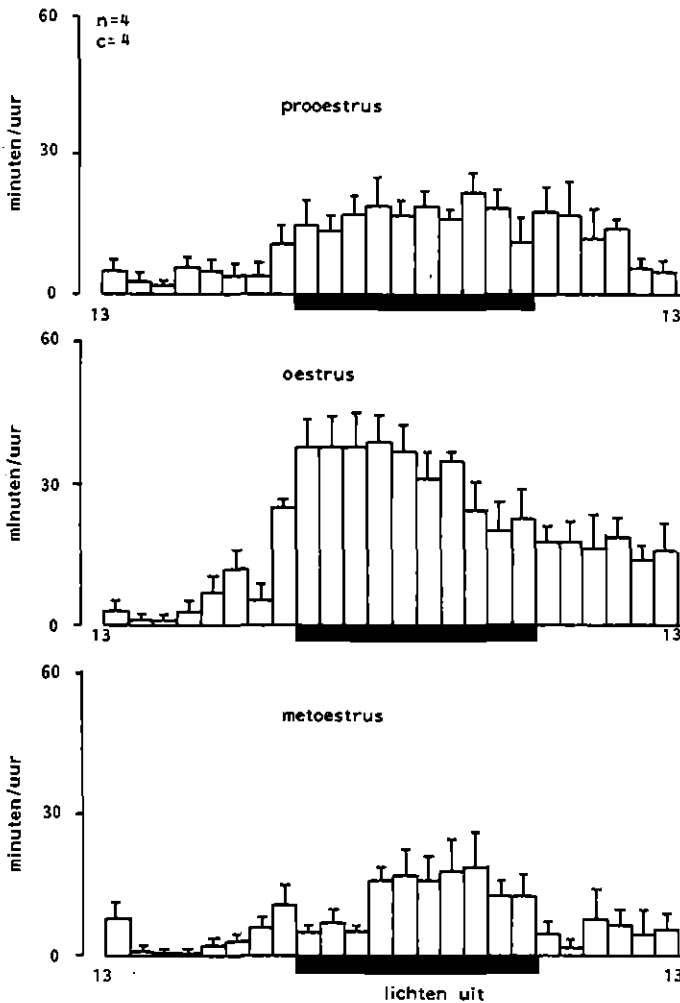
Aanvankelijk werden de gegevens per etmaal (van 00.00-24.00 uur) met elkaar vergeleken. Er konden geen duidelijke verschillen gevonden worden in de tijd die het mannetje doorbracht in de nabijheid van het intacte vrouwtje gedurende de verschillende dagen van haar cyclus. Besloten werd om van één mannelijke rat de verblijfsduur in de vier eindkooitjes van uur tot uur in grafiek te brengen. In de 23 dagen, die de

registratie van dit experiment duurde, maakte het intacte stimulusvrouwtje 4 complete cycli door. Figuur 4-1 toont een gedeelte van deze registratie bij dit ene mannetje. In deze figuur, waarin ook het stadium van de cyclus van het intacte vrouwtje is vermeld, valt onmiddellijk op dat gedurende de nacht tussen prooestrus en oestrus (zoals bepaald aan de hand van het vaginaal uitstrijkje) het mannetje het overgrote deel van de nacht doorbracht bij het intacte vrouwtje. Gedurende de overige nachten vertoonde het mannetje weinig belangstelling voor het geovariectomeerde dier. Door deze intensieve manier van



Figuur 4-1.
De tijd die een individueel mannetje per uur doorbrengt in de vier eindkooitjes van de kruiskooi, terwijl in één stimuluskooitje een intact vrouwtje aanwezig is, en in het andere stimuluskooitje een geovariectomeerd vrouwtje. De stadia van de vaginale cyclus zijn aangegeven. De donkere balken geven de donkerperiode aan.

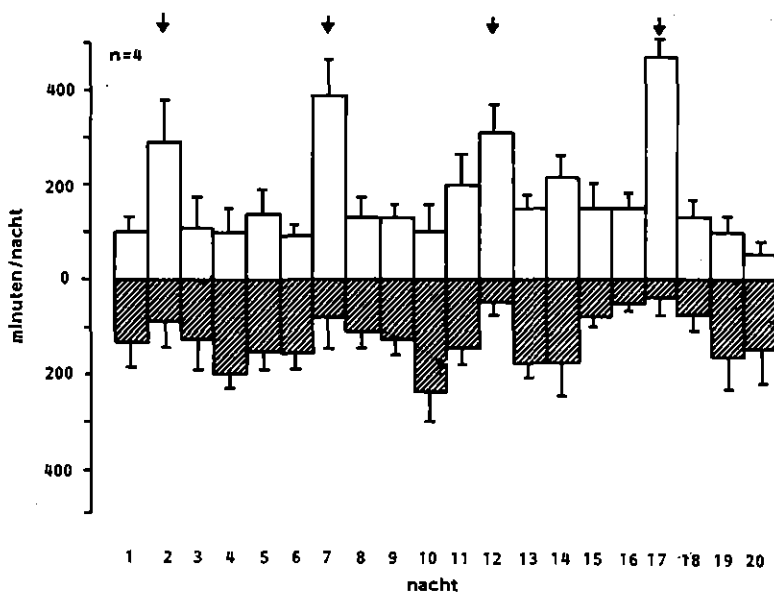
bewerking van de verkregen gegevens werd het duidelijk dat bij verdere analyse een scheiding gemaakt moest worden tussen gegevens die gedurende de lichtperiode en gegevens die gedurende de donkerperiode verzameld waren.



Figuur 4-2.
Gemiddelde (+ SEM) verblijfsduur per uur van intacte mannelijke ratten gedurende drie dagen bij een intact stimulusdier.

Bij 4 van de 6 mannetjes konden de gegevens gedurende 4 cycli van het intacte vrouwtje gebruikt worden; van één mannetje konden de gegevens niet gebruikt worden omdat het geovariectomeerde vrouwtje overleed; de gegevens van een tweede mannetje konden niet gebruikt worden omdat de cyclus van het intacte vrouwtje onregelmatig was. In figuur 4-2 is de verblijfsduur per uur bij de stimulusdieren weergegeven gedurende de dagen van prooestrus, oestrus en metoestrus. Aan de hand van het uitstrijkje van 10.00 uur werd bepaald of de rat de nacht tevoren in bronst was geweest. Iedere kolom in figuur 4-2 vertegenwoordigt 16 waarnemingen bij vier mannetjes. Eerst is voor ieder mannetje afzonderlijk de gemiddelde verblijfsduur per uur over de 4 cycli uitgerekend. Vervolgens is voor de vier mannetjes het gemiddelde van deze gemiddelden uitgerekend. In de eerste uren na het uitgaan van de lichten verbleven de mannetjes meer dan de helft van de tijd in de nabijheid van het bronstige vrouwtje. De belangstelling voor het bronstige vrouwtje nam langzaam af tegen de ochtend. Gedurende de nacht van prooestrus en metoestrus verbleven de mannetjes veel minder in de nabijheid van het intacte vrouwtje.

In figuur 4-3 is de gemiddelde nachtelijke verblijfsduur uitgezet van de 4 mannetjes bij de intacte en de geovariectomeerde vrouwtjes, gesynchroniseerd naar de verschillende stadia van de vier cycli van de intacte vrouwelijke ratten. Gedurende de nacht van bronst van het intacte vrouwtje bracht het mannetje de meeste tijd bij haar door. In diezelfde nacht toonde hij weinig belangstelling voor het intacte vrouwtje. Uit figuur 4-3 is niet duidelijk of er een verschil in verblijfsduur is bij het intacte vrouwtje gedurende de eerste, tweede, derde of vierde maal dat zij in bronst is. Omdat de toets van Hartley aantoonde dat deze gegevens homogeen verdeeld waren, zijn ze geanalyseerd met behulp van een 3-weg variantie analyse volgens een randomized block factorial design [Kirk 1968].



Figuur 4-3.
 Gemiddelde ($\pm$ SEM) verblijfsduur gedurende de nacht bij twee stimulusdieren door vier intacte mannelijke ratten. De pijlen geven de nachten aan waarop het intacte stimulusvrouwtje (witte kolommen) in bronst is. De gearceerde kolommen geven de verblijfsduur aan bij het geovariectomeerde vrouwtje.

Het voordeel van deze (parametrische) methode boven parameter-vrije methoden is dat er diverse interacties getoetst kunnen worden. De resultaten van deze analyse zijn weergegeven in tabel 4-1. Nadere analyse van de significante interactie A x C (intact versus geovariectomeerd stimulusdier x stadium van de cyclus) leerde dat de mannelijke ratten meer tijd doorbrachten bij het intacte vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst dan gedurende andere nachten van haar cyclus. Gedurende de nacht van bronst werd het bronstige stimulusdier ook langer bezocht dan het geovariectomeerde dier. Gedurende de derde nacht na de bronst van het intacte vrouwtje verbleven de mannetjes langere tijd bij het geovariectomeerde dier dan bij het intacte dier. Er was geen verschil tussen de diverse cycli in verblijfsduur bij de

stimulusdieren: er is dus geen leereffect, maar ook geen gewenningseffect met betrekking tot de verblijfsduur bij de stimulusdieren.

Tabel 4-1.

Variantie analyse op de nachtelijke verblijfsduur van 4 mannelijke ratten bij vrouwelijke stimulusdieren in relatie tot het stadium van de ovariële cyclus en het cyclusnummer.

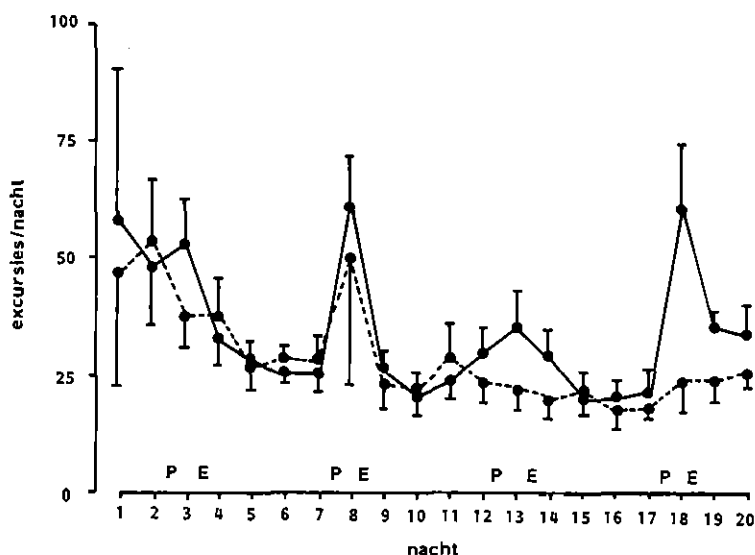
	SS	DF	MS	F	p
A	697	1	697	7.72	<0.01
B	114	3	38	0.42	ns
C	1663	4	416	4.60	<0.005
AxB	328	3	109	1.21	ns
AxC	6988	4	1747	19.36	<0.005
BxC	872	12	73	0.80	ns
AxBxC	1585	12	132	1.46	ns
Blokken	1547	3	516	5.71	<0.005
Rest	10560	117	90		
Totaal	24354	159			

A=geovariectomeerd versus intact; B=cyclusnummer; C=stadium van de ovariële cyclus.

Excursies

Ook de excursies werden aanvankelijk per etmaal (00.00-24.00 uur) bestudeerd. Nadat duidelijk geworden was dat de mannelijke rat vooral 's nachts een voorkeur heeft om in de nabijheid van een bronstige vrouwelijke rat te zijn werden ook de aantallen excursies naar de eindkooitjes met de stimulusdieren per nacht bekeken. In figuur 4-4 zijn de aantallen excursies per nacht weergegeven. De gegevens zijn ook nu weer gesynchroniseerd naar de stadia van de cyclus van het intacte vrouwtje, zodat de nummering van de nachten niet exact overeenkomt met het aantal nachten dat de mannetjes in de kruiskooi verbleven. In figuur 4-4 is te zien dat de mannetjes gedurende de eerste bronstcyclus van het intacte vrouwtje (nachten 1 t/m 5) beide stimulusdieren

met een hoge frequentie bezochten: de loopdieren waren nog niet geadapteerd aan de kruiskooi (zie hoofdstuk 3). Gedurende de eerste en tweede bronst (de nachten 3 en 8) maakten 3 van de 4 mannetjes meer excursies naar het intacte vrouwtje dan naar het geovariectomeerde stimulusdier. Tijdens de derde en vierde nacht van bronst (de nachten 13 en 18) bezochten alle 4 de mannetjes het bronstige dier frequenter dan het geovariectomeerde stimulusvrouwtje.



Figuur 4-4. Gemiddelde (+ SEM) aantal excursies per nacht naar twee stimulusvrouwtjes door intacte mannetjes. P=prooestrus; E=oestrus; —————=excursies naar intacte stimulusdier; - - - - - =excursies naar geovariectomeerde stimulusdier.

Het aantal excursies naar het intacte vrouwtje (d), uitgedrukt als percentage van het aantal excursies naar het geovariectomeerde stimulusdier (b) plus het aantal excursies naar het intacte stimulusdier (d), bedroeg gedurende de eerste,

tweede, derde en vierde nacht van bronst ($d/b+d \times 100$) respectievelijk 58, 59, 61 en 71 procent. Dit percentage bedroeg gedurende de andere nachten van de cyclus gemiddeld 51,5. Het bovenomschreven percentage is ook voor iedere nacht afzonderlijk uitgerekend. Per cyclus -de twee nachten voor de bronst, de nacht van bronst en de twee nachten na de bronst- zijn deze percentages statistisch onderzocht met behulp van de toets van Friedman. Gedurende de nachten van de eerste cyclus (de nachten 1 t/m 5) bezochten de mannetjes de beide stimulusdieren met eenzelfde frequentie (Friedman: $K_1=51$, ns). Ook gedurende de nachten van de tweede cyclus (de nachten 6 t/m 10) vertoonden de percentages geen significante verschillen (Friedman: $K_2=32$, ns); gedurende nacht 8 werd dus zowel het geovariectomeerde stimulusdier als het bronstige vrouwtje met een verhoogde frequentie bezocht. Gedurende de derde en vierde bronstcyclus bezochten de mannetjes het bronstige vrouwtje frequenter dan het geovariectomeerde stimulusdier (Friedman: $K_3=92$, $p<0,05$; $K_4=95$, $p<0,05$).

BESPREKING

Dit experiment laat zien dat in de kruiskooi bij een keuze tussen een intact en een geovariectomeerd vrouwtje een seksueel onervaren, intacte mannelijke rat een voorkeur heeft voor het intacte vrouwtje, wanneer zij in bronst is. Deze voorkeur blijkt uit de langere verblijfsduur bij het bronstige vrouwelijke stimulusdier, in vergelijking met andere dagen van haar cyclus. Dit komt overeen met resultaten van andere in de literatuur vermelde experimentele methoden. Bijvoorbeeld met de vrije veld methode, waarin een identieke keuzesituatie werd gebruikt als in het onderhavige experiment (de keuze tussen een geovariectomeerd vrouwtje en een bronstig, intact vrouwtje), vertoonden intacte

mannetjes ook een voorkeur voor het bronstige vrouwtje [Carr, Loeb & Dissinger 1965; Carr, Loeb & Wylie 1966; Stern 1970; Landauer, Wiese & Carr 1977; Brown 1978]. Ook Hetta en Meyerson [1978] vonden in de door hen gebruikte vrije veld opstelling dat mannelijke ratten langduriger in de buurt van een bronstig vrouwtje verbleven dan in de buurt van een intact mannetje. In de hierboven aangehaalde experimenten met een vrije veld methode en in het experiment met de kruiskooi vertoonden mannelijke ratten een voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot, ondanks het feit dat copulatie niet mogelijk was. In een T-vormig doolhof daarentegen blijken mannetjes slechts een voorkeur voor een bronstig vrouwtje te vertonen als copulatie met haar mogelijk is. Zo onderzocht Kagan [1955] het keuzegedrag van mannelijke ratten in een T-vormig doolhof, terwijl het ene doelkooitje een bronstig vrouwtje bevatte en het andere doelkooitje een intact mannetje. Alleen wanneer mannetjes in staat gesteld werden om met het bronstige wijfje te copuleren en tot een ejaculatie te komen, vertoonden ze in de volgende tests een duidelijke voorkeur voor de arm met het bronstige vrouwtje. Mannetjes aan wie wel intromissies maar geen ejaculaties werden toegestaan vertoonden geen voorkeur voor een van beide armen in daaropvolgende tests. Whalen [1960] kwam tot de conclusie dat mannelijke ratten in het T-vormige doolhof niet leren om naar het bronstige vrouwtje toe te gaan (met in zijn opstelling als alternatief een leeg doelkooitje) wanneer zij het bronstige vrouwtje slechts mogen beklimmen. Werd echter een intromissie bij het bronstige vrouwtje toegestaan, dan kozen de mannetjes in bijna alle volgende tests voor de arm die naar het bronstige stimulusvrouwtje leidde.

Het feit dat copulatie in de kruiskooi niet en in het T-vormige doolhof wel nodig is voor de mannelijke rat om een voorkeur te vertonen voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot is verklaarbaar door het verschil in gebruikte methoden. In de

kruiskooi wordt zowel de verblijfsduur als het aantal excursies gemeten, terwijl in het T-vormige doolhof alleen de keuze gescoord wordt, die ten dele te vergelijken is met één excursie in de kruiskooi. Uit het onderhavige experiment blijkt nu dat het aantal excursies naar een eindkooitje soms geen goede parameter is voor de voorkeur van de rat: immers gedurende de tweede maal dat het stimulusvrouwtje in bronst was maakte het mannetje meer excursies naar beide stimulusdieren; de derde en vierde bronst maakte hij alleen meer excursies naar het bronstige dier (figuur 4-4). In tegenstelling tot het aantal excursies naar het bronstige vrouwtje, was de verblijfsduur bij dit vrouwtje gedurende alle vier nachten van bronst langer dan bij het geovariectomeerde stimulusdier (figuur 4-3).

Terwijl de mannelijke rat in de kruiskooi -zijn woonkooi- de mogelijkheid heeft om zowel lang (verblijfsduur) als vaak (aantal excursies) naar het bronstige vrouwtje te gaan, heeft de rat in het T-vormige doolhof slechts de mogelijkheid om één excursie te maken. Tevens heeft de rat in de kruiskooi de mogelijkheid om ook de rest van de omgeving met een zekere regelmaat te verkennen. Cowan [1977] toonde aan dat dit zogenaamde exploreer-gedrag bij de rat een karakteristiek onderdeel is van zijn gedragsrepertoire. In een kruiskooi liet hij ratten hongeren en gaf ze slechts gedurende een zeer korte tijd per dag toegang tot het eindkooitje met voer. Zelfs gedurende de korte tijd dat de hongerige dieren toegang hadden tot het voer bezochten ze regelmatig alle andere eindkooitjes van de kruiskooi. Hij concludeerde dan ook: "In a familiar environment the tendency to explore is evidently present but for rats faced with a change in a familiar situation, exploration has priority at first" [Cowan 1977 p 183].

Uit de literatuur over voorkeursgedrag wordt duidelijk dat een mannelijke rat heteroseksuele paringservaring moet hebben om

in een vrije veld situatie een voorkeur te vertonen voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Zo vond Stern [1970] dat mannelijke ratten zonder paringservaring geen voorkeur vertoonden voor het kooitje waarin een bronstige rat aanwezig was of voor een kooitje met een geovariectomeerd dier erin. Ook de groep van Carr vond in hun experimenten dat ratten paringservaring moesten hebben om bij een keuze tussen een bronstig en niet-bronstig vrouwtje te kiezen voor het bronstige dier [Carr, Loeb & Dissinger 1965; Carr, Loeb & Wylie 1966]. Echter, in de kruiskooi hoeft een mannelijke rat geen heteroseksuele paringservaring te hebben om een voorkeur te vertonen voor een bronstig vrouwtje, zoals uit het onderhavige experiment blijkt. Een verklaring voor dit verschil in benodigde paringservaring moet gezocht worden in verschillen in gebruikte methoden of verschillen in gebruikte proefdieren (of in geen combinatie van beiden). Een belangrijk verschil tussen de vrije veld methode en de kruiskooi is de duur van observatie. De kruiskooi is een woonkooi, terwijl in het vrije veld de dieren slechts kortdurend getest worden. Een ander verschil tussen de experimenten van Carr et al en Stern enerzijds en de kruiskooi anderzijds is het feit dat bij de eerstgenoemde onderzoekers de dieren elkaar alleen maar konden ruiken en horen, terwijl de dieren in de kruiskooi elkaar ook konden zien en aanraken. Echter, Brown [1978] vond dat mannelijke ratten een voorkeur vertoonden voor alleen geursignalen afkomstig van een bronstig vrouwtje. In een vijf minuten durende test besnuffelden mannelijke ratten langer een blokje waarop urine van een bronstige vrouwelijke rat was gesprendeld dan een blokje waarop geen urine was aangebracht. Lydell en Doty [1972] vonden dat alleen seksueel ervaren, intacte mannelijke ratten een voorkeur vertoonden voor de urine van een bronstig vrouwtje (versus de urine van een niet-bronstig vrouwtje of versus water). Ook in hoofdstuk 10 zal blijken dat mannelijke ratten in de kruiskooi gebruik maken van olfactorische prikkels

die een bronstig vrouwtje produceert.

Een andere verklaring voor het verschil in benodigde paringservaring kan gezocht worden in stamverschillen tussen de gebruikte proefdieren. Stern [1970] gebruikte in zijn experimenten de Sprague-Dawley stam; Carr, Loeb en Dissinger [1965], en Carr, Loeb en Wylie [1966] gebruikten een Long-Evans stam, terwijl voor de experimenten in dit proefschrift een Wistar stam is gebruikt. Het is bekend dat er tussen deze stammen verschillen in copulatie activiteit bestaan. Zo onderzochten Landauer, Wiese en Carr [1978] bij een Long Evans stam de voorkeur van mannelijke ratten voor een bronstig genarcotiseerd vrouwtje versus een niet-bronstig genarcotiseerd vrouwtje. De genarcotiseerde stimulusdieren werden in de woonkooi van de mannetjes geplaatst. De te onderzoeken groep bestond uit 25 mannetjes, zonder heteroseksuele paringservaring. Achttien van deze mannetjes inspecteerden het bronstige vrouwtje langer dan het niet-bronstige vrouwtje. Vervolgens kregen alle 25 mannetjes drie 18 uur durende paringstests. Op grond van deze tests werd er onderscheid gemaakt tussen mannetjes die in deze drie tests minstens eenmaal ejaculeerden (copulators: $n=15$) en mannetjes die in deze drie testen nimmer ejaculeerden (non-copulators: $n=10$). Binnen de eerste groep (copulators) hadden 12 van de 15 mannetjes een voorkeur getoond voor het bronstige vrouwtje, terwijl in de tweede groep slechts 6 van de 10 mannetjes deze voorkeur hadden.

In tegenstelling tot deze door Landuaer et al gebruikte stam, waarin 20-40 procent van de mannetjes in gebruikelijke testomstandigheden niet tot ejaculatie komt, komen er in de door ons gebruikte Wistar stam zelden mannetjes voor die niet ejaculeren.

In een iets andere keuze situatie -intact mannetje versus bronstig vrouwtje- vonden Eliasson en Meyerson [1981] dat in de door hen gebruikte vrije veld methode onervaren mannelijke ratten

van de Sprague-Dawley stam langer in de nabijheid van het bronstige vrouwtje verbleven dan in de nabijheid van een intact mannetje.

SAMENVATTING

Intacte mannelijke ratten vertoonden in de kruiskooi een voorkeur om gedurende de nacht van bronst langer bij een intact stimulusdier te verblijven in vergelijking tot de andere nachten van haar cyclus en in vergelijking tot een geovariectomeerd stimulusdier. Deze toename in verblijfsduur bij het bronstige stimulusdier was vanaf het begin van het verblijf in de kruiskooi bij de mannetjes waarneembaar. Ook het aantal excursies van het intacte mannetje naar een intact vrouwtje nam gedurende de nacht van haar bronst toe. Echter, het aantal excursies vormde geen goede maat om de voorkeur van het mannetje uit af te leiden, omdat gedurende de tweede bronstcyclus van het intacte vrouwtje het mannetje zowel meer excursies maakte naar het bronstige vrouwtje als naar het niet-bronstige stimulusdier. Pas in de derde bronstcyclus maakte het mannetje gedurende de nacht van bronst alleen naar het bronstige vrouwtje meer excursies dan gedurende andere nachten van de cyclus.

Aangezien de mannelijke ratten in het beschreven experiment geen heteroseksuele paringservaring hadden, is deze ervaring bij de gebruikte stam ratten geen vereiste om in de kruiskooi een voorkeur te kunnen tonen voor een bronstige vrouwelijke rat.

HOOFDSTUK 5

EFFECTEN VAN KUNSTMATIG GEÏNDUCEERDE BRONST BIJ EEN STIMULUSDIER OP HET KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT

INLEIDING

In hoofdstuk 4 is beschreven dat een mannelijke rat bij voorkeur in de nabijheid van een bronstig vrouwtje verblijft. In dit hoofdstuk zal onderzocht worden of een mannelijke rat ook een dergelijke voorkeur vertoont voor een geovariectomeerd vrouwtje dat door middel van subcutane injecties met oestradiolbenzooat en progesteron in bronst wordt gebracht.

Het is reeds lang bekend dat het optreden van bronstgedrag bij een vrouwelijke rat gerelateerd is aan cyclisch optredende veranderingen in het ovarium [Long & Evans 1922]. In 1924 werd aannemelijk gemaakt dat het optreden van dit bronstgedrag onder controle staat van ovariumhormonen [Allen, Francis, Robertson, Colgate, Johnson, Doisy, Kountz & Gibson 1924]. Toen gevoeligere hormoonbepalingen mogelijk werden, werd de relatie tussen de wisselingen in de concentraties van oestrogeen en progesteron in het bloed en het optreden van de bronst duidelijk (figuur 2-1) [zie bijvoorbeeld: Butcher, Collins & Fugo 1974; Goodman 1978; Södersten & Eneroth 1981]. Veel eerder was bekend dat bij geovariectomeerde ratten alle componenten van bronstgedrag geïnduceerd kunnen worden door toediening van oestrogeen en progesteron [Boling & Blandau 1939; Beach 1942c; Whalen 1974]. Diverse componenten van bronstgedrag worden door oestradiol en progesteron in verschillende mate beïnvloed; bovendien is er een tijds- en dosis-afhankelijke relatie tussen toegediend

hormoon en gedrag. Empirisch is vastgesteld dat geovariectomeerde ratten 48 uur na een eenmalige, subcutaan toegediende dosis oestradiolbenzooat lordosegedrag vertonen [Whalen 1974; Fadem, Barfield & Whalen 1979; Tennent, Smith & Davidson 1980; Parsons, McLusky, Krey, Pfaff & McEwen 1980; de Jonge, Burger & van de Poll 1986]. Het lordosequotiënt -het aantal lordosen van het bronstige vrouwtje gedeeld door het aantal beklimmingen van een mannetje maal 100- wordt gebruikt om het lordosegedrag te kwantificeren. Door subcutane toediening van een hoge dosis oestradiolbenzooat (8 μ g per dier) aan een geovariectomeerde rat kan een hoog lordosequotiënt worden bereikt [Zemlan & Adler 1977]. Subcutane toediening van progesteron aan geovariectomeerde ratten die twee etmalen eerder met een lagere dosis oestradiolbenzooat zijn behandeld, resulteert (afhankelijk van de gebruikte doses) eveneens in een zeer hoog lordosequotiënt [Beach 1942c; Parsons, McLusky, Krey, Pfaff & McEwen 1980]. Twee tot vier uur na toediening van progesteron is het effect op lordosegedrag maximaal [Beach 1942; Fadem, Barfield & Whalen 1979; Glaser, Rubin & Barfield 1983]. Het lordosequotiënt wordt groter bij een hogere dosis subcutaan toegediend oestradiolbenzooat (bij een gelijkblijvende dosis progesteron) totdat bij een dosis tussen de 2 en 4 μ g een maximum bereikt is [Whalen 1974; Tennent, Smith & Davidson 1980; Lumia, Meisel & Sachs 1981; de Jonge, Burger & van de Poll 1986]. Het lordosequotiënt is ook afhankelijk van de hoeveelheid toegediend progesteron. Whalen [1974] vond dat bij doseringen hoger dan 100 μ g progesteron per dier (bij gelijkblijvende dosis oestradiolbenzooat) het lordosequotiënt nauwelijks meer toenam.

Onderzoek van Tennent, Smith en Davidson [1980] bevestigt dit; hogere doseringen progesteron veroorzaken wel een toename in het "hopping", "darting" en "ear-wiggling" van het bronstige vrouwtje (de zogenaamde proceptieve gedragingen; zie hoofdstuk 2). Whalen [1974] heeft beschreven dat het trillen van de

oortjes bij bronstige vrouwtjes meer afhankelijk is van de toegediende dosis progesteron dan van de toegediende dosis oestradiolbenzooat: doseringen hoger dan 2 μg oestradiolbenzooat per dier hadden geen effect op dit gedrag, terwijl bij een verdubbeling van de dosis progesteron van 50 μg naar 100 μg per dier de frequentie van het oortrillen toenam. Indien geovariectomeerde ratten alleen behandeld worden met oestradiolbenzooat vertonen ze nauwelijks proceptieve gedragingen [Tennent, Smith & Davidson 1980; Landau & Madden 1983]. Alleen bij zeer hoge doseringen oestradiolbenzooat (meer dan 30 μg per dier) vertonen geovariectomeerde ratten proceptieve gedragingen [Zemlan & Adler 1977]. De tijdsduur waarbinnen proceptieve gedragingen optreden is beperkter dan de tijdsduur waarbinnen lordosegedrag optreedt. Een geovariectomeerd, met oestradiolbenzooat behandeld vrouwtje vertoont een half uur na progesteron toediening al lordosegedrag, terwijl ze pas een uur later proceptieve gedragingen vertoont [Fadem, Barfield & Whalen 1979; Glaser, Rubin & Barfield 1983]. Ongeveer 4 uur na progesteron toediening bereiken beide gedragingen een maximum, waarna proceptieve gedragingen snel afnemen (binnen enkele uren) terwijl het lordosegedrag meer geleidelijk verdwijnt (na 12 uur nog op te wekken) [Fadem, Barfield & Whalen 1979; Tennent, Smith & Davidson 1980].

In dit hoofdstuk zal onderzocht worden of geovariectomeerde vrouwtjes -met alleen oestradiolbenzooat of met een combinatie van oestradiolbenzooat en progesteron behandeld- door intacte mannelijke ratten als "aantrekkelijk" ervaren worden in de kruiskooi.

OPZET

Twaalf intacte mannelijke ratten werden ieder in een

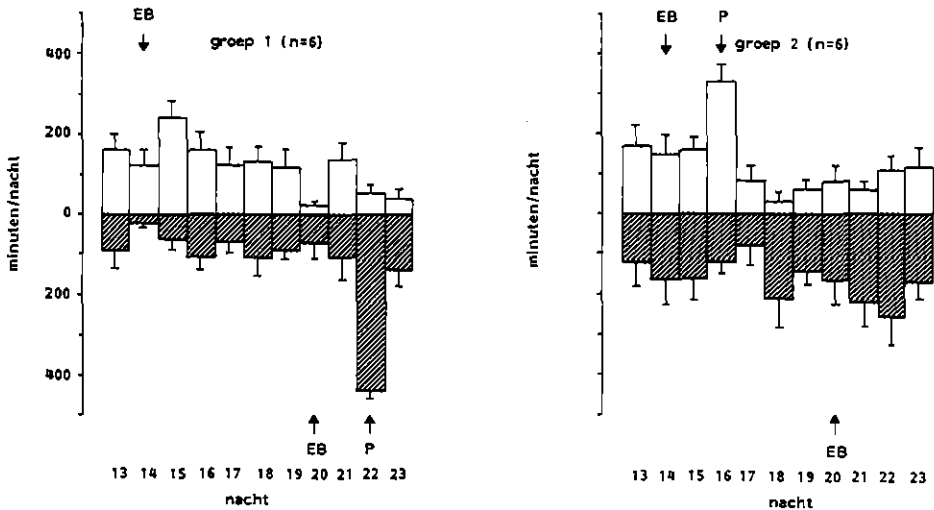
kruiskooi geplaatst, terwijl in de stimuluskooitjes een geovariectomeerd vrouwtje aanwezig was. Met de registraties werd pas een begin gemaakt nadat de dieren 12 dagen in de kruiskooi hadden verbleven.

Ervaringen in ons laboratorium met geovariectomeerde F_1 (R X U) Wistar ratten hebben geleerd dat een subcutane injectie met 2,5 μ g oestradiolbenzooat twee dagen later gevolgd door een subcutane injectie met 0,5 mg progesteron bij vrouwtjes receptieve en proceptieve gedragingen induceren [persoonlijke mededeling: P van der Schoot]. In het experiment in hoofdstuk 4 is gebleken dat het mannelijke looppier na het uitgaan van de lichten actief wordt en gedurende de donkerperiode een voorkeur voor een natuurlijk bronstig vrouwtje vertoont. Daarom werd besloten om 4 uur vóór het uitgaan van de lichten het progesteron toe te dienen zodat de stimulusdieren aan het begin van de donkerperiode in bronst zouden zijn gekomen.

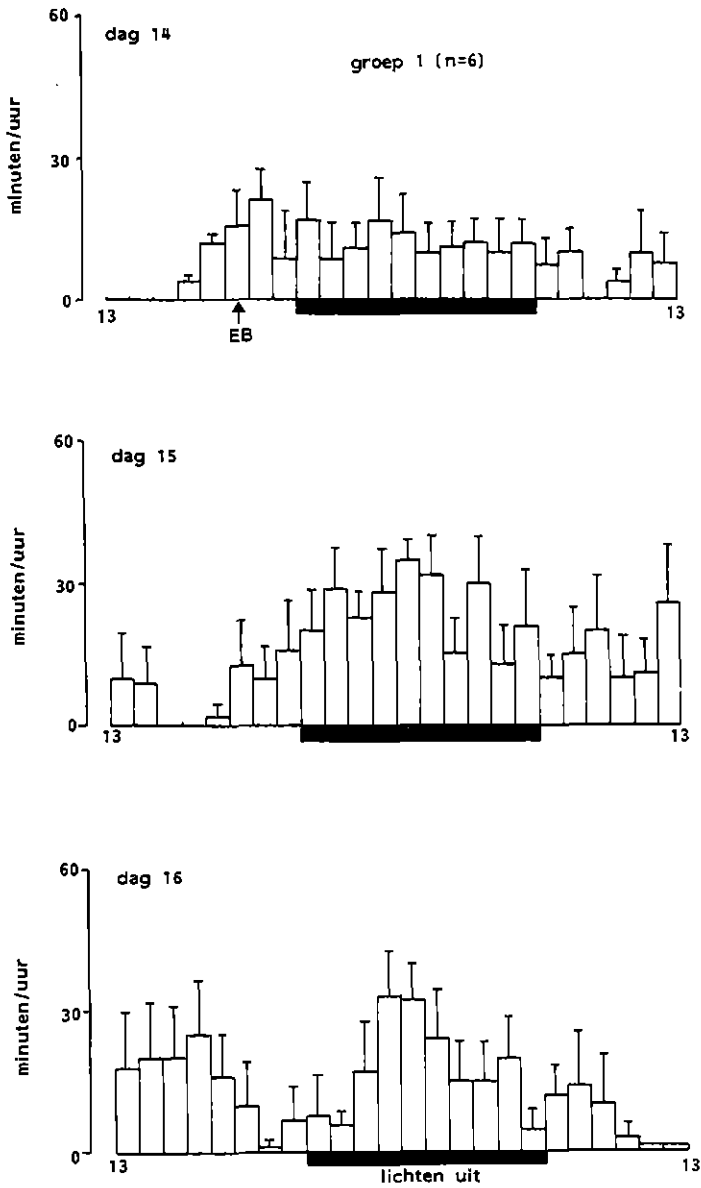
De twaalf mannetjes werden onderverdeeld in twee groepen van zes dieren. Bij groep 1 kreeg op dag 14 het geovariectomeerde vrouwtje boven eindkooitje B een subcutane injectie met 2,5 μ g oestradiolbenzooat, zonder dat zij twee dagen later progesteron kreeg. Op dag 20 werd het andere geovariectomeerde stimulusdier (boven eindkooitje D) met oestradiolbenzooat (2,5 μ g) behandeld twee dagen later gevolgd door een subcutane injectie met 0,5 mg progesteron. Bij groep 2 werd dit behandelingschema omgedraaid: op dag 14 werd het stimulusvrouwtje boven eindkooitje B behandeld met 2,5 μ g oestradiolbenzooat twee dagen later gevolgd door 0,5 mg progesteron. Op dag 20 werd het vrouwtje boven eindkooitje D behandeld met alleen 2,5 μ g oestradiolbenzooat, en niet met progesteron.

RESULTATEN

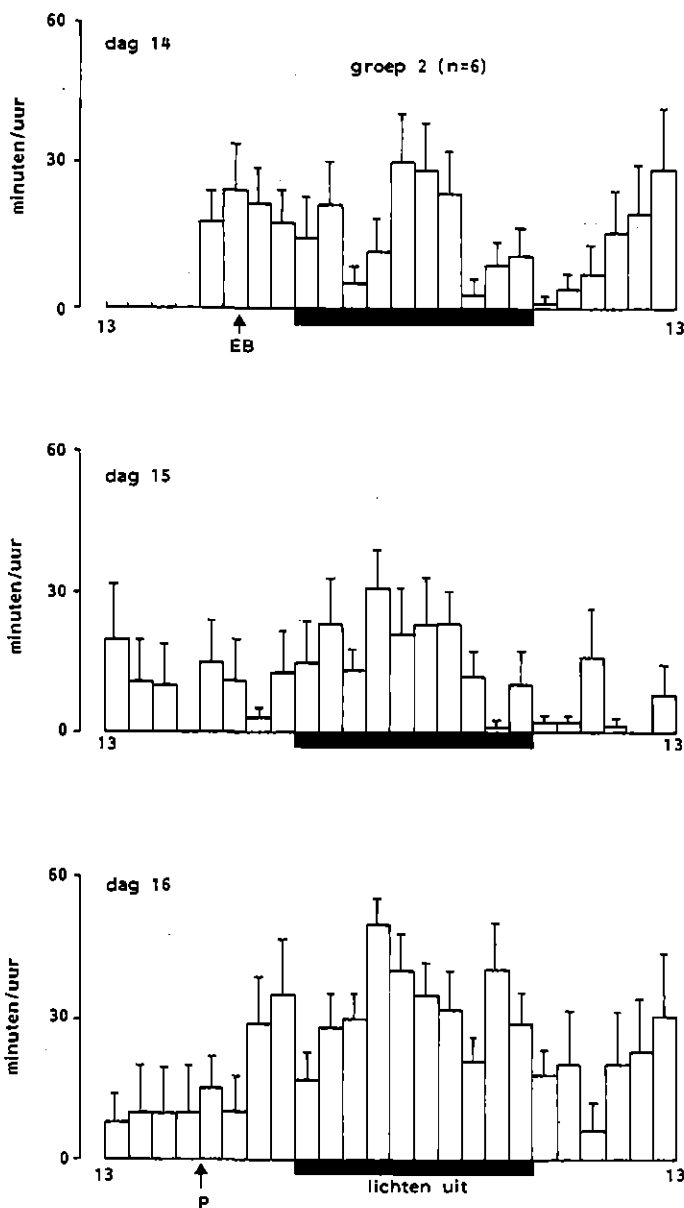
In figuur 5-1 zijn de nachtelijke verblijfsduren bij de stimulusvrouwtjes weergegeven. Gedurende de nachten na progesteron toediening (bij groep 1 nacht 22; bij groep 2 nacht 16) verbleven de mannetjes significant langer bij de met progesteron behandelde vrouwtjes dan gedurende enige andere nacht (Friedman: groep 1, nachten 20 t/m 23: $K=122$, $p<0,01$; groep 2, nachten 14 t/m 17: $K=86$, $p<0,05$). Toediening van alleen oestradiolbenzooat had geen effect op de nachtelijke verblijfsduur van de mannetjes bij deze vrouwtjes (Friedman: groep 1, nachten 14 t/m 17: $K=62$, ns; groep 2, nachten 20 t/m 23: $K=23$, ns).



Figuur 5-1. Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur van intacte mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren, die of met oestradiolbenzooat (EB) of met oestradiolbenzooat (EB) plus progesteron (P) werden behandeld.

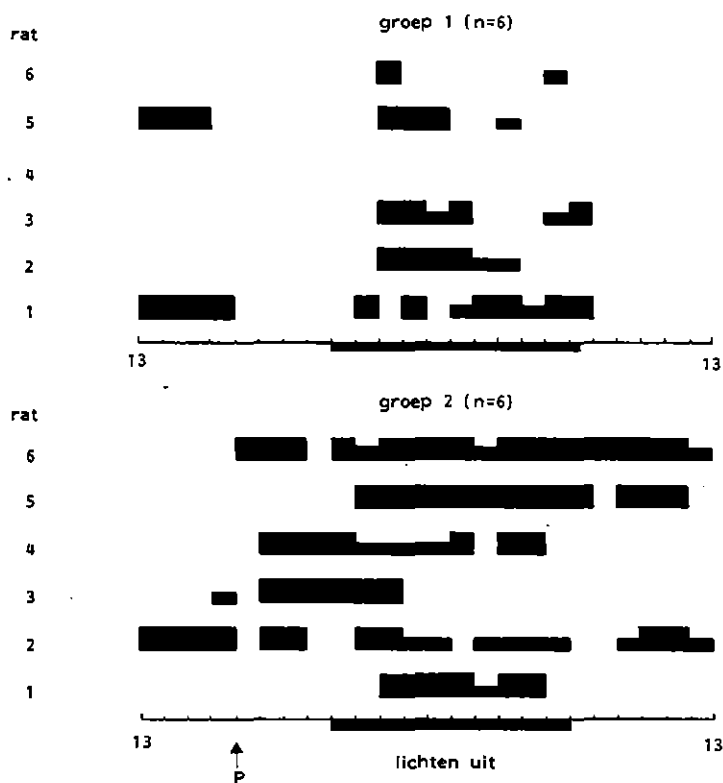


Figuur 5-2A.
 Gemiddelde ($\pm$ SEM) verblijfsduur per uur van intacte mannelijke ratten bij een geovariectomeerd stimulusdier. De stimulusdieren uit deze groep werden op dag 14 behandeld met oestradiolbenzoaat (EB), terwijl ze op dag 16 niet met progesteron werden behandeld.



Figuur 5-28.
 Gemiddelde ($\pm$ SEM) verblijfsduur per uur van intacte mannelijke ratten bij een geovariectomeerd stimulusdier. De stimulusdieren uit deze groep werden op dag 14 behandeld met oestradiolbenzoaat (EB), terwijl ze op dag 16 met progesteron (P) werden behandeld.

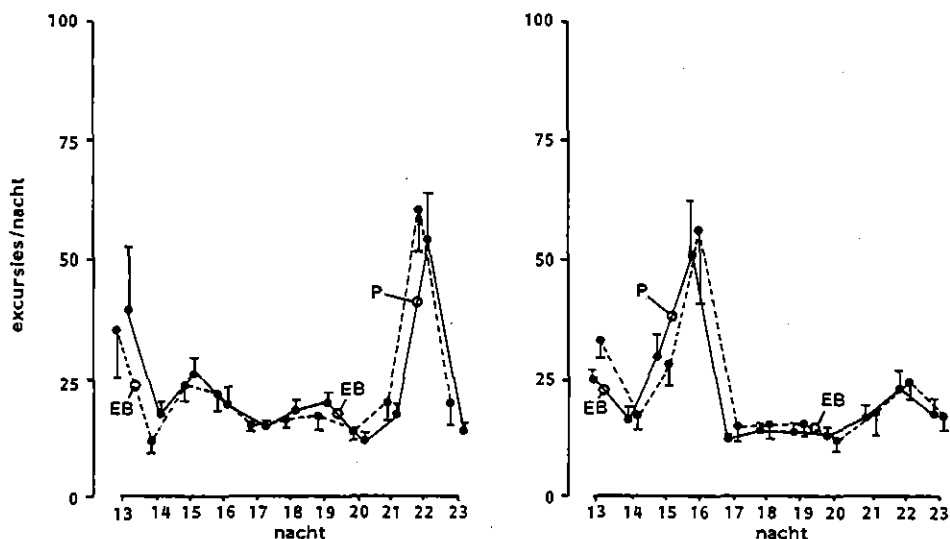
In figuur 5-2 zijn de verblijfsduren per uur bij de behandelde stimulusdieren weergegeven op dag 14 (de dag van oestradiolbenzooat toediening), op dag 15 en op dag 16 (de dag waarop alleen de stimulusdieren in groep 2 (figuur 5-2B) progesteron kregen toegediend). De toename in verblijfsduur bij de stimulusvrouwtjes die met progesteron behandeld werden is geleidelijk en niet duidelijk gerelateerd aan het uitgaan van de lichten.



Figuur 5-3. Verblijfsduur per uur van 12 mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren die 48 uur tevoren met oestradiolbenzooat waren behandeld. De stimulusdieren uit groep 2 kregen om 17.00 uur een progesteron (P) injectie. ■ = tussen 30 en 60 minuten per uur; ■ = tussen 20 en 30 minuten per uur.

In figuur 5-3 zijn de periodes weergegeven waarin de mannetjes uit groep 1 en uit groep 2 op dag 3 langer dan 20 minuten per uur bij het behandelde stimulusvrouwtje doorbrachten. In de onderste helft van figuur 5-3 is te zien dat reeds 2 uur na toediening van progesteron 4 van de 6 mannetjes langer dan 30 minuten per uur bij dit stimulusvrouwtje doorbrachten.

In figuur 5-4 zijn de aantallen excursies gedurende de nacht naar de stimulusvrouwtjes weergegeven. Na toediening van progesteron (P) aan het met oestradiolbenzooat (EB) voorbehandelde vrouwtje nam het aantal excursies naar beide stimulusdieren toe (Friedman: groep 1: naar EB+P vrouwtje: $K=2270$, $p<0,01$; naar EB vrouwtje: $K=2075$, $p<0,01$; groep 2: naar EB+P vrouwtje: $K=2151$, $p<0,01$; naar EB vrouwtje: $K=1998$, $p<0,01$). Er werd geen significante toename in aantallen excursies gevonden na toediening van alleen oestradiolbenzooat aan een stimulusdier.



Figuur 5-4.
Gemiddeld ($\pm$ SEM) aantal excursies naar twee geovariectomeerde stimulusvrouwtjes door intacte mannetjes. De stimulusdieren werden of alleen met oestradiolbenzooat (EB) of met EB plus progesteron (P) behandeld.

BESPREKING

Een geovariectomeerd met oestradiolbenzooat behandeld stimulusdier bleek na progesteron toediening het keuzegedrag van een intacte mannelijke rat in de kruiskooi te beïnvloeden. Gedurende de nacht, beginnend 4 uur na de progesteron injectie, verbleef het mannetje significant langer bij dit stimulusvrouwtje dan gedurende andere nachten (figuur 5-1). Uitsluitend oestradiol toediening aan een geovariectomeerd stimulusvrouwtje had in de onderzochte dosering geen effect op het keuzegedrag van het mannetje: gedurende alle nachten verbleef hij ongeveer even lang bij dit stimulusdier.

Dus: beide hormonen maken -in de onderzochte doseringen- een vrouwelijk stimulusdier in de kruiskooi "aantrekkelijk" voor een intact, seksueel onervaren mannetje. Zoals in de inleiding reeds is opgemerkt kan oestradiol toediening aan geovariectomeerde ratten hen zeer receptief maken, zonder dat zij proceptieve gedragingen, zoals "hopping", "darting" en "ear-wiggling" vertonen [Zemlan & Adler 1977; Fadem, Barfield & Whalen 1979; Tennent, Smith & Davidson 1980; Hlíňák & Madlafousek 1981]. Seksueel ervaren mannelijke ratten copuleren met dergelijke receptieve vrouwtjes, ook al vertonen deze vrouwtjes geen proceptieve gedragingen [Landau & Madden 1983]. Seksueel onervaren mannetjes daarentegen copuleren frequenter met vrouwtjes die ook proceptieve gedragingen vertonen [Hlíňák & Madlafousek 1971]. Geovariectomeerde met oestradiol behandelde vrouwtjes vertonen deze proceptieve gedragingen na toediening van progesteron [Fadem, Barfield & Whalen 1979; Tennent, Smith & Davidson 1980; Hlíňák & Madlafousek 1981]. Proceptieve gedragingen bepalen voor een deel de aantrekkelijkheid van een vrouwelijke rat voor het mannetje, hetgeen onder bepaalde testomstandigheden duidelijk tot uiting komt. Zo vonden Thor en Flannelly [1978] dat seksueel ervaren mannetjes met een gestoorde

reukzin wel in staat waren om in een groep vrouwelijke ratten het bronstige dier te herkennen: deze mannetjes probeerden vrijwel uitsluitend met dit bronstige vrouwtje te copuleren. Indien de bronstige en niet-bronstige vrouwtjes door Haloperidol toediening onbeweeglijk waren gemaakt (waardoor de bronstige vrouwtjes dus geen proceptieve gedragingen meer vertoonden) trachtten de anosmische mannetjes te paren met zowel de bronstige als met de niet-bronstige vrouwtjes. Mannetjes met een intacte reukzin copuleerden vrijwel uitsluitend met door Haloperidol gefimmobiliseerde bronstige vrouwtjes. Madlafousek, Hlinák en Beran [1976] vonden dat de snelheid waarmee het beklimgedrag door het mannetje na castratie verdween mede afhankelijk was van de mate van proceptiviteit van het vrouwtje, waarmee de mannetjes getest werden. Gecastreerde ratten copuleerden bij een lagere dosis toegediend testosteron indien zij getest werden met vrouwelijke ratten die proceptieve gedragingen vertoonden [Hlinák, Madlafousek & Mohapelová 1979].

Naast deze proceptieve gedragingen wordt de aantrekkelijkheid van een bronstig dier ook bepaald door niet-gedragmatige stimuli. Zo is gebleken dat seksueel ervaren mannelijke ratten de geur afkomstig van een bronstig vrouwtje aantrekkelijk vinden [Carr, Loeb & Dissinger 1965; Stern 1970; Brown 1978; Thody & Dijkstra 1978].

Op grond van het experiment in dit hoofdstuk is niet uit te maken of progesteron door inductie van proceptieve gedragingen bij het stimulusvrouwtje haar aantrekkelijkheid voor het mannetje bepaalt. In hoofdstuk 9 en 10 zal besproken worden via welke signalen (gedrag, reuk, vocalisaties of een combinatie hiervan) het mannetje de bronst van het vrouwtje herkent.

De resultaten van het onderhavige experiment zijn op een aantal punten afwijkend van die van Hetta en Meyerson [1978]. Zij onderzochten seksueel ervaren mannelijke ratten in een vrije veld situatie. Aan weerszijden van het vrije veld bevond zich

een kooitje met daarin een geovariectomeerd stimulusdier. In een 30 minuten durende test brachten deze mannetjes ongeveer 65 procent van hun tijd door in de nabijheid van een stimulusdier dat twee etmalen eerder behandeld was met ongeveer dezelfde dosis oestradiolbenzooat als in het onderhavige experiment. Ongeveer 20 procent van hun tijd brachten de mannetjes door bij het niet-behandelde stimulusdier dat zich in het andere kooitje bevond. Wanneer in hun experimenten de mannetjes een keuze konden maken tussen twee met oestradiolbenzooat ($2,5 \mu\text{g/kg}$ lichaamsgewicht) behandelde vrouwtjes, waarvan er één tevoren met progesteron (1 mg/dier) was behandeld, dan hadden zij alleen bij een test in de periode tussen 2,5 en 4 uur na progesteron toediening een voorkeur voor dit met progesteron behandelde vrouwtje. Bij een test in de daarop volgende perioden (4,5 tot 6 uur en 6,5 tot 8,5 uur) verbleven de mannetjes even lang bij beide stimulusdieren. Behalve de verschillen in methode van onderzoek was er nog een belangrijk verschil: Hetta en Meyerson [1978] gebruikten seksueel ervaren mannetjes ("all subjects had proven copulatory ability" p 31), terwijl in het huidige experiment mannetjes zonder heteroseksuele paringservaring zijn gebruikt. Het is niet denkbeeldig dat seksueel ervaren mannelijke ratten de bronst van vrouwelijke soortgenoten (hebben leren) herkennen aan andere of minder signalen dan seksueel onervaren mannelijke ratten. Immers, Hlinák en Madlafousek [1971] hebben beschreven dat vrouwelijke ratten die proceptieve gedragingen vertoonden seksueel naieve mannelijke ratten sneller tot copulatie aanzetten dan vrouwelijke ratten die geen proceptieve gedragingen vertoonden. Seksueel ervaren mannelijke ratten daarentegen copuleren met receptieve vrouwtjes, ongeacht of zij proceptieve gedragingen vertonen [Landau & Madden 1983].

De aantallen excursies naar beide stimulusvrouwtjes (figuur 5-4) laten een toename zien naar beide stimulusdieren, terwijl slechts één dier in bronst is. Ook in hoofdstuk 4 was er een

toename in aantallen excursies, zowel naar het bronstige dier als naar het geovariectomeerde dier gedurende de tweede natuurlijke bronst van een intact stimulusvrouwtje (zie figuur 4-4). Bij de derde en vierde natuurlijke bronst in dat experiment maakten de mannetjes alleen naar het bronstige dier meer excursies. Omdat de tweede bronst in het experiment in hoofdstuk 4 nog in de adaptatieperiode viel, was niet uit te sluiten dat de toename in aantallen excursies naar beide stimulusdieren verband hield met de adaptatie van de ratten aan de kruiskooi. In het onderhavige experiment echter, waren de mannetjes al aan de kruiskooi geadapteerd: de registraties begonnen pas nadat de mannetjes 12 dagen in de kruiskooi verbleven. De toename in aantallen excursies naar de beide stimulusdieren gedurende de nacht van bronst van één van de stimulusdieren moet verklaard worden uit het feit dat deze (seksueel onervaren) mannelijke ratten in de kruiskooi voor de eerste maal in aanraking kwamen met een bronstig vrouwtje.

SAMENVATTING

Een intacte seksueel onervaren mannelijke rat vertoont een voorkeur om in de nabijheid van een geovariectomeerd stimulusdier te verblijven dat met 0.5 mg progesteron is behandeld en twee etmalen eerder met 2,5 μ g oestradiolbenzooat. Wanneer het stimulusdier alleen met oestradiolbenzooat (2,5 μ g) was behandeld toonde het mannelijke loopdier geen voorkeur voor haar.

HOOFDSTUK 6

EFFECTEN VAN CASTRATIE, TESTOSTERON, DIHYDROTESTOSTERON EN OESTRADIOL OP KEUZEGEDRAG VAN DE MANNELIJKE RAT.

In de hoofdstukken 4 en 5 is beschreven dat een intacte mannelijke rat in de kruiskool een voorkeur vertoont voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. In dit hoofdstuk zal het effect van castratie en testosteron toediening op het keuzegedrag van de mannelijke rat besproken worden (experiment 1). Vervolgens zal het effect van oestradiol en dihydrotestosteron toediening aan gecastreerde mannelijke loopdieren op hun keuzegedrag besproken worden (experiment 2).

EXPERIMENT 1: EFFECT VAN CASTRATIE EN TESTOSTERON TOEDIENING

Inleiding

Reeds in 1894 beschreef Steinach het effect van castratie op seksueel gedrag van mannelijke ratten. Sindsdien is het bekend dat castratie van een mannelijke rat in weken tot maanden leidt tot een afname van alle componenten van paringsgedrag, hoewel het plasma testosteron gehalte al binnen 24 uur tot niet detecteerbaar niveau daalt [Södersten, Hansen, Eneroth, Wilson & Gustafsson 1980]. Ejaculatie- en intromissiegedrag verdwijnen binnen enkele weken, terwijl beklingedrag en precopulatoire gedragingen (zoals het likken en inspecteren van de anogenitaalstreek van een bronstig vrouwtje door een mannelijke rat) slechts zeer langzaam verdwijnen en vaak maanden na castratie nog aanwezig kunnen zijn [Davidson 1966; Bloch &

Davidson 1968; Madlafousek, Hlinák & Beran 1976; Thor 1978; Larsson 1979; Broere, van der Schoot & Slob 1985]. Toediening van testosteron aan gecastreerde mannetjes leidt tot een min of meer geleidelijke terugkeer van alle componenten van paringsgedrag [Feder 1971; Malmnäs 1973; Södersten 1973; Madlafousek, Hlinák & Beran 1976; Damassa, Smith, Tennent & Davidson 1977; Gray, Smith & Davidson 1980; Broere, van der Schoot & Slob 1985]. Malmnäs [1973] beschreef dat gecastreerde mannelijke ratten pas 30 tot 54 uur na een eenmalige intraperitoneale injectie met testosteron de eerste beklimming vertoonden. Volledige terugkeer van alle componenten van paringsgedrag bij gecastreerde mannelijke ratten werd waargenomen nadat de dieren gedurende 15 dagen dagelijks met 100 µg testosteronpropionaat waren behandeld [Södersten 1973].

Het effect van castratie op het keuzegedrag van de rat is onderwerp geweest van een beperkt aantal studies. Stern [1970] onderzocht de voorkeur van gecastreerde mannelijke ratten in een vrije veld situatie. Hij toonde aan dat gecastreerde mannelijke ratten even weinig tijd bij een bronstig vrouwtje als bij een niet-bronstig vrouwtje doorbrachten, terwijl intacte mannetjes meer tijd doorbrachten bij het bronstige dier dan bij het niet-bronstige dier. Hetta en Meyerson [1978] vonden in een vrije veld opstelling met een andere keuze situatie (intact mannetje versus bronstig vrouwtje) dat na castratie mannelijke ratten geen voorkeur meer vertoonden voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Toediening van testosteronpropionaat (0,5 mg/kg lichaamsgewicht om de andere dag) aan gecastreerde mannetjes leidde tot een toename in de tijd die de dieren doorbrachten bij het bronstige stimulusdier.

In dit experiment wordt het effect van castratie van mannelijke loopdieren op hun keuzegedrag in de kruiskooi onderzocht. Omdat er continu geregistreerd wordt, kan er ook een

indruk gekregen worden over het verloop van dit keuzegedrag in de tijd. Ook het effect van testosteron toediening op het keuzegedrag zal bestudeerd worden.

Opzet

Het experiment werd uitgevoerd in 11 kruiskooien waarin intacte mannelijke ratten zonder heteroseksuele paringservaring werden gehuisvest. De keuzesituatie was gelijk aan die in hoofdstuk 4: in één stimuluskooitje verbleef een intact vrouwtje terwijl in het andere kooitje een geovariectomeerd dier aanwezig was. Vijf dagen per week werd er bij het intacte vrouwelijke dier 's morgens om 10.00 uur met behulp van een òse een vaginaal uitstrijkje gemaakt om het stadium van de cyclus te bepalen (zie hoofdstuk 4). Twee weken na het begin van het experiment werden de mannelijke ratten gecastreerd onder ethernarcose. Na deze ingreep werden ze weer teruggeplaatst in hun kruiskooi. In week 10 werd bij deze gecastreerde dieren een siliconen rubber slangetje met testosteron (implantaat) aangebracht onder de huid van de rug. Dit implantaat had een lengte van 1 cm, een inwendige diameter van 3 mm en een uitwendige diameter van 4 mm. Uit eerdere experimenten was gebleken dat deze implantaten voldoende waren om de door castratie veroorzaakte atrofie van prostaat en zaadblazen te herstellen; ook waren deze implantaten ruim voldoende gebleken om paringsgedrag bij gecastreerde mannetjes te induceren [persoonlijke mededeling: JTM Vreeburg].

Drie weken na implantatie werden alle dieren gedurende een periode van zes weken uit de kruiskooi verwijderd en in isoseksuele groepen gehuisvest. De gecastreerde mannetjes (met testosteron implantaat) werden na deze periode weer in de kruiskooien gezet. De stimulusvrouwtjes werden vervangen door andere geovariectomeerde en intacte vrouwtjes. Vier weken later werden de testosteron implantaten bij de mannetjes verwijderd

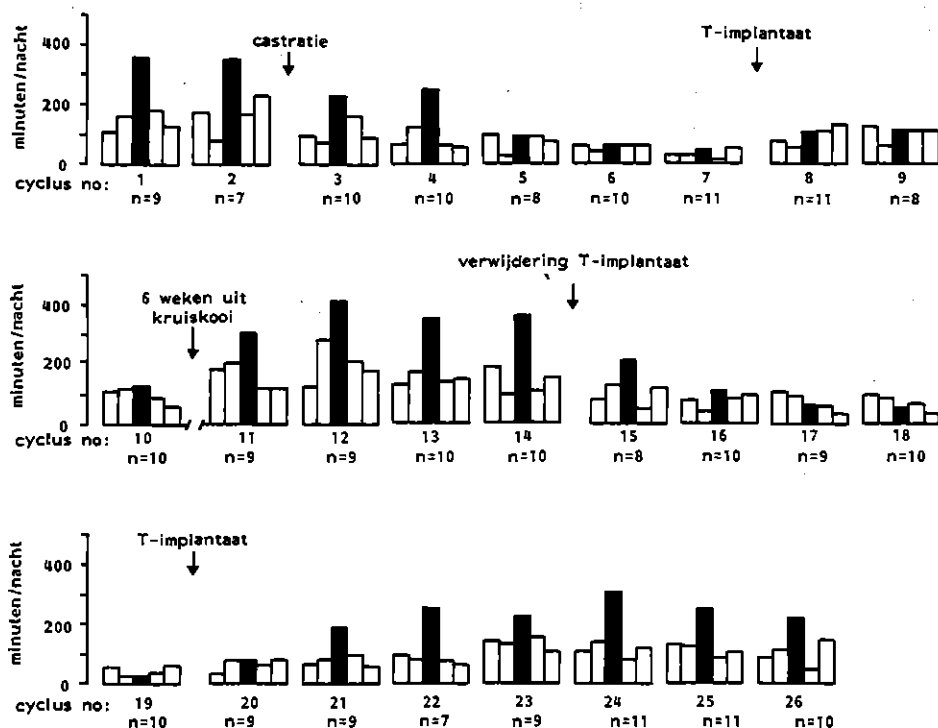
nadat bloed was verzameld om de plasma spiegel van testosteron te kunnen bepalen. Weer vijf weken later kregen de gecastreerde mannetjes opnieuw een testosteron implantaat; tevens werden de stimulusdieren weer vervangen door andere dieren. Aan het eind van het experiment werd er bij de mannetjes (deze waren inmiddels 9 maanden oud terwijl het experiment een half jaar geduurd had) nogmaals bloed afgenomen. Na het doden van de dieren werden de gewichten van ventrale prostaat en zaadblazen, zonder secreet, bepaald om een effect van de testosteron behandeling te evalueren.

Bewerking van de gegevens

De gegevens van de mannetjes werden gesynchroniseerd rond de nacht van oestrus van het intacte vrouwtje. De gegevens werden slechts gebruikt indien de uitstrijkjes een duidelijk prooestrus-, oestrus- of metoestrus- beeld te zien gaven. Omdat niet gedurende iedere cyclus van het intacte vrouwtje een uitstrijkje werd gevonden dat een van de boven vermelde kenmerken bezat, varieert het aantal mannetjes waarvan de gegevens werden geanalyseerd van cyclus tot cyclus (gemiddelde: 9.5; uitersten: 7-11). In de figuren is aangegeven van hoeveel mannetjes de gegevens verwerkt zijn. Met de nacht van bronst wordt steeds de nacht bedoeld die voorafgaat aan het vagina-uitstrijkje dat alleen verhoorde epitheelcellen bevat.

Resultaten

Zoals in figuur 6-1 te zien is verbleven de mannetjes vóór castratie langer bij het intacte vrouwtje gedurende de nacht van bronst dan tijdens andere nachten van haar cyclus (Friedman: $K_1=280$ $p<0,01$; $K_2=191$ $p<0,05$). Dit is geheel in overeenstemming met de gegevens uit hoofdstuk 4. Ook gedurende de eerste twee cycli na castratie bleven de mannetjes een voorkeur vertonen voor het bronstige vrouwtje door langer bij haar te verblijven dan



Figuur 6-1.

Gemiddelde nachtelijke verblijfsduur van mannelijke ratten bij een intact stimulusvrouwtje. De zwarte kolommen geven de verblijfsduur weer gedurende de nacht van bronst. De mannetjes ondergingen de volgende behandelingen: castratie (na cyclusnummer 2); testosteron (T) implantatie (na cyclusnummer 7); verwijdering gedurende 6 weken uit de kruiskooi (na cyclusnummer 10); verwijdering van het T-implantaat (na cyclusnummer 14); reïmpantatie van het T-implantaat (na cyclusnummer 19).

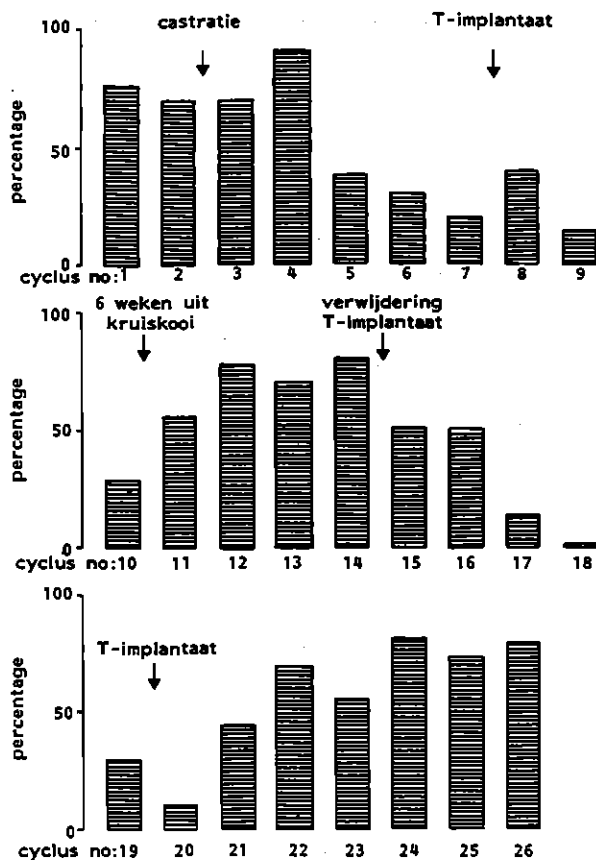
tijdens andere nachten (Friedman: $K_3=274$, $p<0,01$; $K_4=378$, $p<0,01$). Gedurende cyclus 5, 6 en 7 is er van een dergelijke voorkeur geen sprake meer (Friedman: $K_5=60$, ns; $K_6=153$, ns; $K_7=180$, ns). Figuur 6-2 laat dit op een andere wijze zien: in deze figuur is het percentage van het aantal mannetjes weergegeven dat gedurende de nacht van bronst langer bij het intacte vrouwtje verbleef dan op de andere dagen van haar cyclus. Evenals in figuur 6-1 trad een effect van castratie pas op na 2 cycli. Er is een duidelijke afname te zien in het aantal

mannetjes dat meer tijd gedurende de nacht van bronst dan gedurende andere nachten bij het intacte vrouwtje doorbracht.

Implantatie met testosteron werd niet onmiddellijk gevolgd door een toename in verblijfsduur bij het bronstige intacte vrouwtje, zoals te zien is in figuur 6-1, cyclusnummer 8, 9 en 10 (Friedman: $K_8=104$, ns; $K_9=54$, ns; $K_{10}=22$, ns). Pas nadat de mannetjes 6 weken uit de kruiskooi waren geweest en het intacte stimulusvrouwtje éénmaal in bronst was geweest (cyclusnummer 11: Friedman: $K_{11}=116$, ns) was er weer een significante toename in verblijfsduur bij het bronstige vrouwtje (Friedman: $K_{12}=420$, $p<0,01$; $K_{13}=359$, $p<0,01$; $K_{14}=375$, $p<0,01$). Ook in figuur 6-2 is dit te zien; vanaf cyclusnummer 12 verbleef weer meer dan 70 procent van de mannetjes gedurende de nacht van bronst de langste tijd bij het intacte vrouwtje. Verwijdering van het implantaat (na cyclusnummer 14) resulteerde in een afname in de verblijfsduur van de mannetjes gedurende de nacht van bronst van het intacte vrouwtje, zoals te zien is in figuur 6-1 (Friedman: $K_{15}=130$, ns; $K_{16}=118$, ns; $K_{17}=232$, $p<0,05^*$; $K_{18}=164$, ns; $K_{19}=26$, ns). Ook figuur 6-2 laat zien dat verwijdering van het implantaat na cyclusnummer 14 tot gevolg had dat in cyclusnummer 15 al minder mannetjes een voorkeur hebben voor de nacht van bronst. Reïmpantatie leidde na ongeveer vier weken weer tot een toename in belangstelling en voorkeur voor een bronstig intact vrouwtje (zie figuur 6-1, na cyclusnummer 19; Friedman: $K_{20}=128$, ns; $K_{21}=185$, ns; $K_{22}=214$, $p<0,05$; $K_{23}=102$, ns; $K_{24}=543$, $p<0,01$; $K_{25}=390$, $p<0,01$; $K_{26}=450$, $p<0,01$). Figuur 6-2 laat zien dat vanaf cyclusnummer 22 weer meer dan de helft van de mannetjes de meeste belangstelling voor het vrouwtje had wanneer zij in bronst was.

Behalve een effect van castratie en testosteron toediening op de verblijfsduur van het mannetje bij het bronstige vrouwtje, is in figuur 6-1 te zien dat er een effect is op de verblijfsduur

* Verdere analys wees uit dat dioestrus II significant verschilde van metoestrus



Figuur 6-2.

Percentage mannelijke ratten dat langere tijd doorbrengt bij het intacte vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst dan gedurende andere nachten van haar cyclus. Voor overige gegevens zij verwezen naar figuur 6-1.

bij het intacte vrouwtje gedurende de andere nachten (witte kolommen). In tabel 6-1 is de gemiddelde nachtelijke verblijfsduur bij het intacte, niet in bronst zijnde vrouwtje gedurende de diverse experimentele behandelingen van het mannetje weergegeven. Er waren significante verschillen in verblijfsduur tussen de diverse behandelingsperioden (Friedman: $K=190$, $p<0,05$). Wanneer de mannetjes geen testosteron kregen toegediend verbleven ze korter bij het intacte vrouwtje dan wanneer ze met

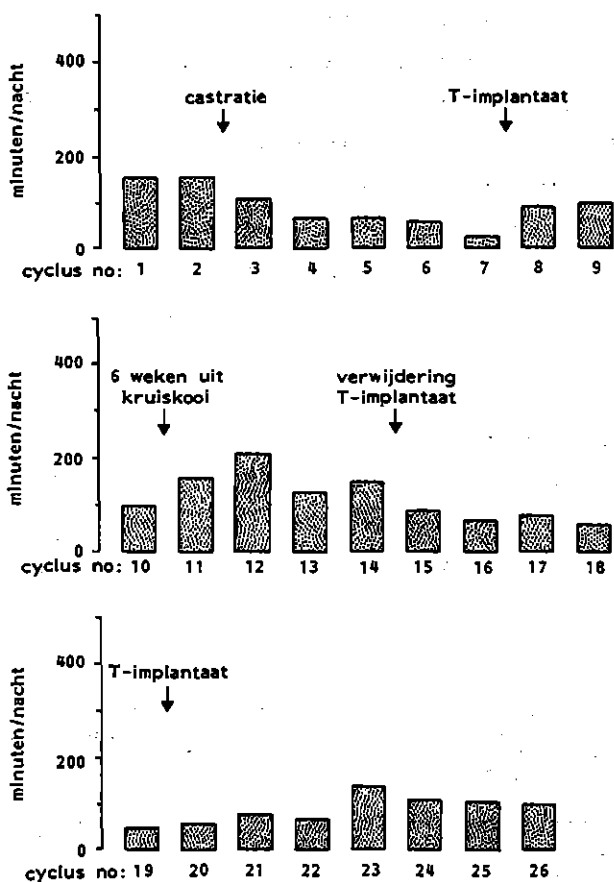
testosteron werden behandeld; de verblijfsduur voor castratie was niet significant verschillend ten opzichte van een van de vier andere perioden.

Tabel 6-1.
Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur (min) door mannelijke loöpdieren bij het intacte vrouwtje gedurende de nachten dat zij niet in bronst is.

Voor castratie (cyclus 1 en 2)	122 $\pm$ 31.7	
Na castratie (cyclus 3-7)	62 $\pm$ 12.9	]*
Na T-implantaat (cyclus 8-14)	137 $\pm$ 25.8	]*
Na verwijdering T-implantaat (cyclus 15-19)	60 $\pm$ 13.2	]*
Na re-implantering T-implantaat (cyclus 20-26)	109 $\pm$ 16.6	]*

*= $p < 0.05$

In figuur 6-3 is per cyclus de gemiddelde verblijfsduur weergegeven gedurende de 4 nachten dat het intacte vrouwtje niet in bronst was. Mogelijke verschillen in verblijfsduren tussen twee opeenvolgende cycli zijn met behulp van de rangtekentoets onderzocht. Er was een significant verschil in verblijfsduur tussen de cyclus vóór (nummer 2) en de cyclus ná castratie (nummer 3) (rangtekentoets: $V=24$, $p < 0,05$). Toediening van testosteron (na cyclusnummer 7) leidt tot een geleidelijke maar onmiddellijke toename in de verblijfsduur (rangtekentoets: $V=66$, $p < 0,01$). Ook tussen cyclus 14 en 15 was een significant verschil in verblijfsduur (rangtekentoets: $V=21$, $p < 0,05$). Na reImplantering van het testosteron implantaat, na cyclusnummer 19, was er geen onmiddellijke toename in verblijfsduur. Tussen cyclus 20 en 21 was er wel een verschil in verblijfsduur (rangtekentoets: $V=28$, $0,1 < p < 0,05$). De verblijfsduur bij het geovariectomeerde dier, hoewel niet nader uitgewerkt, vertoonde een soortgelijk beeld: in aanwezigheid van testosteron (afkomstig uit de testes of een implantaat) verbleven de



Figuur 6-3.

Gemiddelde nachtelijke verblijfsduur door mannelijke ratten bij het intacte vrouwtje gedurende de 4 nachten van de cyclus dat zij niet in bront is. Voor overige gegevens zie figuur 6-1.

mannetjes langer bij de geovariectomeerde vrouwtjes dan zonder testosteron.

Het aantal excursies is niet in een figuur weergegeven. Er was geen duidelijk effect van castratie omdat de mannetjes werden gecastreerd op een tijdstip dat het aantal excursies nog niet op een stabiel niveau was (gedurende de adaptatietijd). Na castratie schommelde het aantal excursies naar alle vier eindkooitjes tussen de 40 en 50 per nacht. Aan- of afwezigheid

van het implantaat met testosteron beïnvloedde het totaal aantal nachtelijke excursies niet. De gemiddelde ($\pm$ SEM) plasma testosteron spiegels bedroegen $3,7 \pm 0,32$ ng/ml na cyclusnummer 14 en $2,7 \pm 0,24$ ng/ml aan het einde van het experiment. Kennelijk is de afgifte van testosteron uit de implantaten afgenomen, hoewel alle implantaten nog voor meer dan 75 procent gevuld waren. In tabel 6-2 zijn de gewichten van de zaadblazen en ventrale prostaat vermeld van de 11 dieren uit dit experiment en gemiddelden van een groep van 12 intacte mannelijke dieren. De gewichten van de zaadblazen en van de prostaat bij de 11 dieren uit de behandelingsgroep waren zwaarder dan bij de 12 intacte mannetjes. Het testosteron dat door de siliconen rubber implantaten werd afgescheiden, was dus voldoende om atrofie van prostaat en zaadblazen teniet te doen.

Tabel 6-2.

Gemiddelde ($\pm$ SEM) lichaamsgewicht, gewicht van de zaadblazen en gewicht van de ventrale prostaat bij de 11 proefdieren aan het einde van experiment 1 en bij een controlegroep van 12 onbehandelde mannelijke ratten van 4 maanden oud.

	Experiment I	Controle groep
Lichaamsgewicht (gr)	387 ± 7.8	334 ± 7.4
Ventrale prostaat (mg)	584 ± 37.0	506 ± 12.7
Zaadblazen (mg)	437 ± 22.7	403 ± 23.3

EXPERIMENT 2: EFFECT VAN OESTRADIOL OF DIHYDROTESTOSTERON TOEDIENING NA CASTRATIE

Inleiding

Uit bovenstaand experiment blijkt dat testosteron invloed heeft op het keuzegedrag van een mannelijke rat in de kruiskooi. Indien dit hormoon ontbreekt neemt de voorkeur om bij een

bronschtig vrouwtje te verblijven af. Dit lijkt op wat er met het beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag gebeurt: bij afwezigheid van testosteron verdwijnen deze gedragingen geleidelijk. Testosteron wordt in allerlei weefsel omgezet in onder andere dihydrotestosteron en oestradiol (zie hoofdstuk 2) [Naftolin, Ryan, Davies, Reddy, Flores, Petro, Kuhn, White, Takoaka & Wolin 1975; Martini 1982]. Dihydrotestosteron toediening aan gecastreerde ratten heeft tot gevolg dat een aantal effecten van castratie verdwijnt: zo neemt bijvoorbeeld het lichaamsgewicht toe, worden de zaadblazen en prostaat weer zwaarder en neemt het aantal verhoorde papillen op de glans penis weer in aantal toe [McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker, Tan, Sampson, Kitching, Greenhill & Pritchard 1970; Feder 1971; Larsson, Södersten & Beyer 1973; Paup, Mennin & Gorski 1975]. Bij met dihydrotestosteron behandelde ratten zijn in dezelfde mate kunstmatig erecties op te wekken als bij intacte mannelijke ratten [Hart 1979; Gray, Smith & Davidson 1980; Meisel, O'Hanlon & Sachs 1984]. Hoewel dihydrotestosteron bovengenoemde effecten van castratie teniet doet of voorkomt, herstelt het slechts in zeer beperkte mate de effecten van castratie op seksueel gedrag [McDonald, Beyer, Newton, Brien, Baker, Tan, Sampson, Kitching, Greenhill & Pritchard 1970; Feder 1971; Paup, Mennin & Gorski 1975; Baum 1979; Yahr 1979], in tegenstelling tot oestradiolbenzooat. Wanneer oestradiolbenzooat in hoge doses (100 μg /dier/dag) wordt gegeven induceert het bij nagenoeg alle gecastreerde ratten copulatiegedrag [Södersten 1973]. Oestradiolbenzooat herstelt evenwel de eerder genoemde effecten van castratie op penis, prostaat en zaadblazen niet. Een lage dosis oestradiolbenzooat (2 μg /dier) tezamen met dihydrotestosteron (200 μg /dier) induceert bij gecastreerde ratten alle aspecten van paringsgedrag [Baum & Vreeburg 1973; Larsson, Södersten & Beyer 1973; Baum 1979a; Larsson 1979]. Op dit moment wordt aangenomen dat bij de rat zowel (de omzetting

van testosteron naar) dihydrotestosteron als oestradiol noodzakelijk zijn om paringsgedrag bij mannelijke ratten tot stand te brengen [Södersten & Gustafsson 1980]. Niet duidelijk is of in aanwezigheid van oestradiol het synergistische effect van dihydrotestosteron op paringsgedrag tot stand komt door een directe werking van dit hormoon op het centrale zenuwstelsel of dat het effect van dihydrotestosteron te verklaren is door de eerder beschreven neurofysiologische en morfologische veranderingen aan de penis.

In dit experiment zal het effect van oestradiol en dihydrotestosteron toediening aan gecastreerde mannelijke ratten op hun keuzegedrag in de kruiskooi bestudeerd worden.

Opzet

Twaalf mannelijke ratten werden drie weken voor het experiment gecastreerd. Gedurende dezelfde narcose kregen vier mannetjes een siliconen rubber implantaat met oestradiol (de E₂-groep), 4 anderen kregen een implantaat met dihydrotestosteron (de DHT-groep) en de overige vier kregen een leeg implantaat (de schijn-groep) (voor karakteristieken van de implantaten zie tabel 6-3). Deze implantaten werden onder de huid aan de rugzijde van de nek aangebracht. Aan het eind van het experiment -zeven weken na implantatie- werd er tijdens ethernarcose via een intraorbitale punctie bloed verzameld ter bepaling van de hormoonspiegels. Deze spiegels zijn eveneens weergegeven in tabel 6-3. In ieder stimuluskooitje was een geovariectomeerde rat aanwezig. Eenmaal per week werd -beurtelings- één van de twee stimulusdieren in bronst gebracht door middel van een subcutane injectie met oestradiolbenzooat 2 etmalen later gevolgd door progesteron (zie hoofdstuk 5). Het experiment omvatte in totaal 4 kunstmatige cycli, bestaande uit 7 dagen.

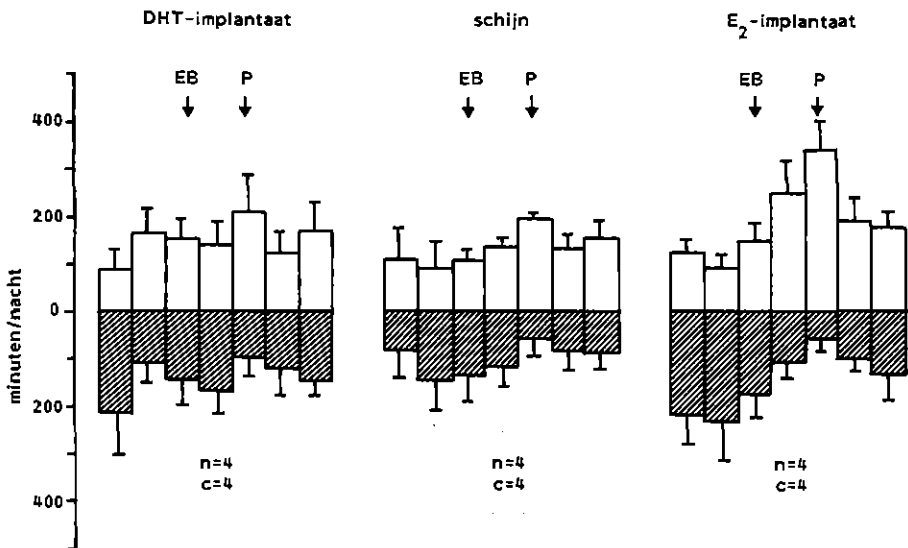
Resultaten

De resultaten van dit experiment zijn weergegeven in figuur 6-4. Voor iedere rat werd de gemiddelde verblijfsduur (Y_n) van overeenkomstige dagen van de cycli berekend. Per

Tabel 6-3.
Karakteristieken van in experiment 2 gebruikte siliconen rubber implantaten en gevonden concentraties in serum (pg/ml).

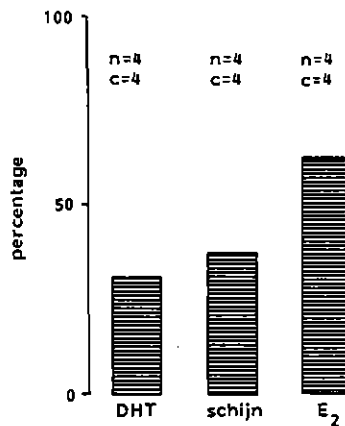
Behan- deling	Lengte (cm)	Diameter (mm)		Gemiddelde ($\pm$ SEM) concentratie in serum (pg/ml)		
		Invendig	Uitwendig	DHT	T	E ₂
DHT	3.0	1.5	2.1	330 $\pm$ 27.8	nd	nd
E ₂	2.5	0.5	1.0	nd	nd	140 $\pm$ 17.3
Leeg	2.5	0.5	1.0	nd	nd	nd

nd=niet detecteerbaar; DHT=dihydrotestosteron; E₂=oestradiol; T=testosteron.



Figuur 6-4.
Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur door drie behandelingsgroepen gecastreerde mannelijke ratten die of een dihydrotestosteron (DHT), of een leeg (schijn), of een oestradiol (E₂) implantaat hebben, bij geovariectomeerde stimulusvrouwtjes. Eén vrouwtje per kruiskooi werd met oestradiolbenzoaat (EB) en progesteron (P) behandeld (witte kolommen), terwijl het andere stimulusvrouwtje niet werd behandeld (gearceerde kolommen).

behandelingsgroep ($n=4$) werd van deze gemiddelden (Y_n) vervolgens een groeps-gemiddelde ($Y_{1-4}/4$) berekend. In figuur 6-4 is te zien dat alleen de ratten met een oestradiol implantaat een voorkeur hebben om gedurende de nacht van bronst in de nabijheid van een bronstig vrouwtje te verblijven (Friedman: $K=312$, $p<0.01$). Noch de met dihydrotestosteron behandelde dieren noch de onbehandelde dieren vertoonden dit gedrag (Friedman DHT-groep: $K=165$, ns; schijn-groep: $K=126$, ns). De verblijfsduur bij het niet in bronst gebrachte stimulusdier toonde alleen bij de met oestradiol behandelde mannetjes significante verschillen gedurende de diverse nachten: zij verbleven gedurende de nacht van bronst van het andere dier korter bij het onbehandelde geovariectomeerde stimulusdier dan gedurende andere nachten (Friedman E_2 -groep: $K=182$, $p<0.05$; DHT-groep: $K=124$ ns; schijn-groep: $K=73$, ns).



Figuur 6-5.
Percentage gecastreerde mannetjes dat gedurende de nacht na progesteron toediening aan een geovariectomeerd stimulusdier langer bij haar doorbracht dan gedurende de 2 nachten voor en de 2 nachten na deze nacht. Voor overige gegevens zie figuur 6-4.

Figuur 6-5 laat het verschil tussen de drie behandelingsgroepen in de voorkeur voor een bronstig vrouwtje op een andere wijze zien. Gedurende 62 procent van de nachten dat een vrouwtje in bronst was (16 nachten) brachten de met oestradiol behandelde mannetjes langere tijd bij dit dier door dan tijdens andere nachten.

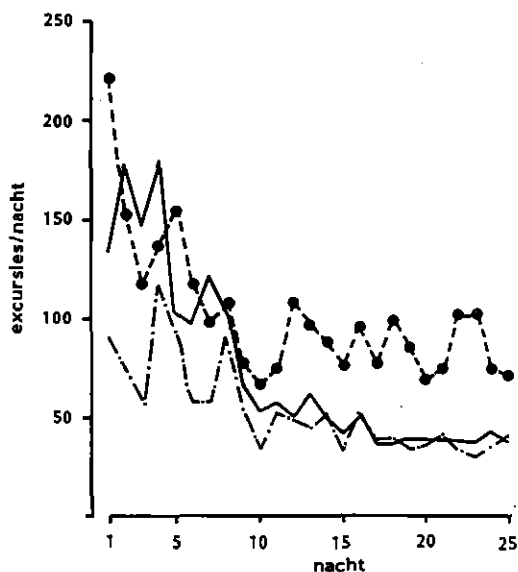
Met betrekking tot de verblijfsduren gedurende de 2 nachten voor en de 2 nachten na de nacht van bronst konden geen significante verschillen gevonden worden tussen de diverse behandelingsgroepen (zie tabel 6-4; Kruskal en Wallis: $H=1,94$, ns).

Tabel 6-4.
Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur (min) van 3 groepen gecastreerde mannetjes bij een vrouwtje gedurende 2 nachten voor en 2 nachten na de nacht van de bronst.

DHT-groep	158 $\pm$ 43.2
Schijn-groep	129 $\pm$ 14.5
E ₂ -groep	186 $\pm$ 42.2

DHT=dihydrotestosteron; E₂=oestradiol.

Het totale aantal nachtelijke excursies naar alle 4 eindkooitjes is weergegeven in figuur 6-6 om te illustreren dat gewinning aan een testsituatie invloed kan hebben op gevonden effecten van hormoon behandeling. Gedurende de eerste 10 nachten was er geen significant verschil tussen de 3 behandelingsgroepen (Kruskal en Wallis: $H=3,5$, ns) Na de adaptatieperiode (zie hoofdstuk 3) -gedurende de nachten 11 tot en met 25- maakten de met oestradiol behandelde mannetjes meer excursies dan de mannetjes met een dihydrotestosteron of een leeg implantaat (Kruskal en Wallis: $H=7,38$, $p<0,05$).



Figuur 6-6.
 Gemiddeld aantal nachtelijke excursies naar de vier eindkooitjes door 3 behandelingsgroepen gecastreerde mannetjes.
 —•—• = groep met DHT-implantaat;
 --- = groep met leeg implantaat;
 -.- = groep met E₂-implantaat.

BESPREKING

Uit het eerste experiment dat in dit hoofdstuk beschreven is, wordt duidelijk dat de voorkeur van de mannelijke rat om bij een bronstig vrouwtje te zitten na castratie geleidelijk afneemt. Toediening van testosteron leidt na een aantal weken tot een terugkeer van deze voorkeur voor een bronstig vrouwtje (zie figuren 6-1 en 6-2). Na castratie vertoont het mannetje ook een afname in de verblijfsduur bij het intacte vrouwtje gedurende de nachten dat zij niet in bronst is, terwijl gedurende testosteron toediening de verblijfsduur bij haar weer toeneemt.

Carr et al [1965; 1966] kwamen op grond van hun experimenten

(kortdurende observatie in een vrije veld situatie) tot de conclusie dat mannelijke ratten, die 8 maanden na castratie voor de eerste maal werden getest, geen voorkeur vertoonden om langer bij een bronsig vrouwtje te verblijven dan bij een niet-bronsig vrouwtje. Intacte, seksueel onervaren mannetjes toonden in hun experimenten ook geen voorkeur. Intacte, seksueel ervaren mannetjes daarentegen vertoonden wel een voorkeur voor een bronsig vrouwtje.

Stern [1970] heeft het tijdsinterval tussen castratie en het verdwijnen van de voorkeur voor een bronsig vrouwtje bestudeerd. Na castratie werd bij seksueel ervaren mannetjes iedere 48 uur de verblijfsduur gemeten in de nabijheid van een bronsig en van een geovariectomeerd vrouwtje in een 5 minuten durende vrije veld situatie. Pas in de derde week na castratie vond Stern dat de voorkeur -uitgedrukt als quotiënt van de tijd doorgebracht bij het bronsige vrouwtje gedeeld door de tijd doorgebracht bij het niet-bronsige vrouwtje- afnam. Ook de totale tijd die de gecastreerde mannetjes aan ieder van beide vrouwtjes besteedden nam af na castratie. De resultaten van Stern komen overeen met hetgeen in experiment 1 gevonden is, waar de voorkeur om bij het bronsige vrouwtje te verblijven in de derde cyclus na castratie verdween. Ook Hetta en Meyerson [1978] vonden in de door hen gebruikte vrije veld opstelling -met als keuzesituatie een intacte mannelijke rat versus een bronsig vrouwtje- pas 10 dagen na castratie een effect op de voorkeur.

Vijf dagen na de start van subcutane toediening van testosteronpropionaat vond Stern [1970] al een terugkeer van de voorkeur voor het bronsige vrouwtje. Deze mannetjes kwamen toen voor de derde maal in contact met een bronsig vrouwtje. In de onderhavige experimenten zien we de voorkeur pas terug keren tussen de 13-de en 21-ste dag (figuren 6-1 en 6-2: cyclus 22 en 24). De verklaring voor dit verschil in tijdstip van terugkeer kan gezocht worden in de verschillende wijze van hormoon

toediening en de testsituaties. Het lijkt niet aannemelijk dat met testosteron behandelde gecastreerde ratten eerst een aantal malen in contact moeten zijn geweest met bronstige vrouwtjes alvorens weer een voorkeur te vertonen. Immers, reeds de eerste maal dat een stimulusdier in bronst kwam vertoonden seksueel onervaren, intacte mannelijke ratten in de kruiskooi een voorkeur voor haar (figuur 6-1: cyclus 1).

De voorkeur van een mannelijke rat om in de nabijheid van een bronstig vrouwtje te verblijven wordt dus beïnvloed door de aanwezigheid van testiculaire hormonen. Uit het tweede experiment van dit hoofdstuk blijkt dat ook oestradiol toediening aan een gecastreerde mannelijke rat de voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot kan induceren. Alleen dihydrotestosteron toediening bewerkstelligde bij de gecastreerde mannelijke rat geen voorkeur voor een bronstig vrouwtje. In tegenstelling tot copulatiegedrag -waar oestradiol en dihydrotestosteron nodig lijken te zijn om het effect van castratie teniet te doen [zie o.a.: Baum & Vreeburg 1973; Larsson, Södersten & Beyer 1973]- is dihydrotestosteron niet noodzakelijk om bij een gecastreerde mannelijke rat een voorkeur voor een bronstig vrouwtje te induceren. Dit komt overeen met de experimenten van Brown [1978] die vond dat gecastreerde ratten behandeld met oestradiolbenzoaat ook een voorkeur vertoonden voor blokjes die besprenkeld waren met urine van bronstige vrouwtjes versus "urine-blokjes" van niet-bronstige vrouwtjes. Gecastreerde mannetjes vertoonden geen voorkeur voor een van beide.

Op grond van deze experimenten kan geconcludeerd worden dat bij de mannelijke rat testosteron en oestradiol betrokken zijn bij de verwerking van de signalen die een vrouwelijk dier uitzendt om hem gedurende haar bronst tot toenadering te bewegen. Het is niet duidelijk of het hier gaat om een directe beïnvloeding van de hersenen of dat bijvoorbeeld de gevoeligheid

van de zintuigen van de mannelijke rat toenemen door testosteron en oestradiol. De resultaten van het tweede experiment geven steun aan de hypothese dat effecten van oestradiol op seksueel gedrag veroorzaakt worden door effecten van dit hormoon op de hersenen of het sensorium terwijl dihydrotestosteron door effecten op de anatomie en neurofysiologie van de penis het seksueel gedrag van de rat beïnvloedt [Meisel, O'Hanlon & Sachs 1984].

SAMENVATTING

Castratie van seksueel onervaren mannelijke ratten leidt tot een geleidelijke afname in de voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Testosteron toediening aan een gecastreerd mannetje herstelde deze voorkeur na enkele weken. Ook oestradiol toediening herstelde deze voorkeur. Gecastreerde mannelijke ratten die met dihydrotestosteron werden behandeld toonden daarentegen geen voorkeur voor een bronstige vrouwelijke rat.

HOOFDSTUK 7

NEONATALE CASTRATIE EN EFFECTEN OP HET KEUZEGEDRAG

INLEIDING

In hoofdstuk 6 is beschreven dat castratie van een mannelijke rat leidde tot veranderingen in morfologie en gedrag. Substitutie met testosteron deed deze effecten van castratie weer geleidelijk aan verdwijnen. Naast deze zogenaamde *activerende* werking van hormonen op volwassen leeftijd is bekend dat androgenen -bij de rat rond de geboorte- blijvende veranderingen in morfologie en gedrag teweeg brengen: de zogenaamde *organiserende* werking. Een punt van discussie voor wat betreft de organisatie van paringsgedrag is de vraag in hoeverre de afwijkende morfologie van de penis verantwoordelijk is voor de gevonden gedragsverschillen. Immers, manipulatie met androgenen rond de geboorte heeft een blijvend effect op de penismorfologie [Beach, Noble & Orndoff 1969; Ward 1969; Sachs & Thomas 1985]. Indien dus op volwassen leeftijd een mannelijke rat die vlak na de geboorte gecastreerd is, afwijkend copulatiegedrag vertoont, dan is onzeker in hoeverre dit afwijkende gedrag een gevolg is van een anders "georganiseerd" centraal zenuwstelsel, de afwijkende penismorfologie of door een combinatie van beide. Bestudering van het keuze gedrag in de kruiskooi kan een bijdrage leveren bij de beantwoording van deze vraag omdat er een gedrag gemeten wordt (de verblijfsduur bij een bronstig vrouwtje) waarbij de morfologie van de penis niet van belang lijkt te zijn.

Voor een goed begrip van de "organisatie"-hypothese en de ontwikkeling van de genitaliën is het gewenst dat in het kort de

ontstaanswijze van anatomische geslachtsverschillen besproken wordt.

Volgens de huidige embryologische inzichten bepaalt het H-Y antigeen, waarvoor de genen deels gelegen zijn op het Y chromosoom, in belangrijke mate de differentiatie van de primitieve geslachtsstrengen naar testes [Langman 1969; Gordon & Ruddle 1981; Haseltine & Ohno 1981; Wilson, George & Griffin 1981; Ohno, Epplen & Cellini 1984]. Bij afwezigheid van een Y chromosoom maar in aanwezigheid van twee X chromosomen ontstaan ovaria [Gordon & Ruddle 1981; Jost & Magre 1984]. Deze differentiatie vindt bij de rat plaats gedurende de 13-de dag na de conceptie [Jost & Magre 1984].

Na deze differentiatie bepaalt de endocriene functie van de testes of ovaria het seks-dimorfe fenotype [Wilson, George & Griffin 1981; Jost & Magre 1984; Ohno, Epplen & Cellini 1984]. De foetale testes van de rat produceren vanaf de 14-de dag na de conceptie testosteron [Jost & Magre 1984]. Gedurende de laatste dagen van de zwangerschap en de eerste dagen na de geboorte is dit testosteron in het plasma te bepalen. In het eerste uur na de geboorte is het plasma testosteron gehalte bij de mannelijke rat zeer hoog (ongeveer 3 ng/ml) en het daalt in de loop van het eerste etmaal tot waarden die ook voor de geboorte worden gemeten (ongeveer 0,5 ng/ml) [Slob, Ooms & Vreeburg 1980; Gogan, Slama, Bizzini-Koutznetzova, Dray & Kordon 1981; Slob & Vreeburg 1985]. Ook bij de vrouwelijke rat is rond de geboorte testosteron meetbaar, maar de concentratie is ongeveer de helft lager dan bij de mannelijke rat [Slob, Ooms & Vreeburg 1980; Weisz & Ward 1980]. Een stijging in het eerste uur na de geboorte is bij de vrouwelijke rat niet waargenomen. Onder invloed van dit testosteron uit de foetale testes ontwikkelen de buizen van Wolff zich tot zaadleider, bijbal en zaadblaas [Ward 1969; Baum 1979; Wilson, George & Griffin 1981]. Uit de sinus urogenitalis ontstaan de penis en het scrotum, onder invloed van het

plaatselijk uit testosteron gevormde dihydrotestosteron [Ward 1969; van der Schoot 1980; Wilson, George & Griffin 1981]. Daarnaast produceren de foetale testes nog een andere stof, de zogenaamde Müller Inhibiting Factor (MIF) die regressie van de buizen van Müller veroorzaakt. Deze deels nog hypothetische stof is een glycoproteïne dat geproduceerd wordt door de Sertoli cellen [Jost & Magre 1984].

Ontbreken functionele testes dan ontwikkelen deze buizen van Müller zich tot eileiders, baarmoeder en een groot gedeelte van de vagina [Langman 1969]. De buizen van Wolff gaan dan in regressie en uit de sinus urogenitalis ontwikkelen zich de vrouwelijke genitaliën. Bij de rat vindt een gedeelte van de differentiatie van de externe genitaliën na de geboorte plaats [Ward 1969; Sachs & Thomas 1985].

Aanwezigheid van functionele testes gedurende kritieke fasen in de organogenese hebben tot gevolg dat er een mannelijk fenotype ontstaat (de zogenaamde organiserende werking van hormonen). Naast de hierboven beschreven organisatie van inwendige en uitwendige genitaliën, veroorzaakt de aanwezigheid van functionele testes in kritieke perioden ook blijvende fysiologische en anatomische veranderingen in andere organen, zoals in de lever en het centrale zenuwstelsel [Swanson & van der Werff ten Bosch 1965; Raisman & Field 1971; Bardin & Catterall 1981; Gorski 1984; Sachs & Thomas 1985]. Onder invloed van testosteron in volwassenheid ontwikkelen deze, in mannelijke richting gedifferentieerde, structuren zich verder of worden zij aangezet tot hun functie (de zogenaamde activerende werking van hormonen).

Ten aanzien van het ontstaan van dimorfisme in seksueel gedrag veronderstelden Phoenix et al een soortgelijke organiserende werking van testosteron gedurende kritieke perioden in de ontwikkeling van het centraal zenuwstelsel: "We are assuming that testosterone or some metabolites acts on these

central nervous tissues in which patterns of sexual behavior are organised" [Phoenix, Goy, Gerall & Young 1959 p 381]. In het oorspronkelijke artikel, dat gebaseerd is op studies bij cavia's, werd de prenatale periode als belangrijk beschouwd. Uit latere studies is duidelijk geworden dat binnen een diersoort verschillende gedragingen verschillende kritieke perioden hebben [Goy & McEwen 1980]. Bovendien is het tijdstip van zo'n kritieke periode afhankelijk van de diersoort [Phoenix, Goy & Resko 1968]. Zo valt bij de cavia de kritieke periode voor de organisatie van beklimgedrag geheel voor de geboorte, terwijl bij de rat deze periode rond de geboorte ligt. Bij de hamster wordt beklimgedrag onder invloed van androgenen geheel na de geboorte georganiseerd [Beach 1971].

Bij organiserende effecten van androgenen op gedrag wordt een onderscheid gemaakt tussen defeminisatie en masculinisatie van gedragscomponenten [Baum 1979; Goy & McEwen 1980]. Deze processen sluiten elkaar niet uit [Leshner 1978; Baum 1979]. De termen defeminisatie en masculinisatie dienen met voorzichtigheid gehanteerd te worden, omdat met deze termen niet door alle auteurs hetzelfde bedoeld wordt [voor een uitgebreide discussie zij verwezen naar Beach 1971; Goy & McEwen 1980; Goldfoot & Neff 1985]. In dit proefschrift zullen deze termen niet gebruikt worden: steeds zal worden aangegeven voor welke gedragingen de aanwezigheid van androgenen gedurende een kritieke periode een organiserende (faciliterende of inhiberende) werking heeft.

De kritieke periode voor de organiserende werking van androgenen op seksueel gedrag ligt bij ratten voor een deel in de neonatale periode. Toediening van testosteron aan vrouwelijke ratten vlak na de geboorte heeft tot gevolg dat zij in volwassenheid, na toediening van oestradiol en progesteron, in mindere mate lordosegedrag vertonen dan vrouwtjes die in de neonatale periode niet met testosteron behandeld zijn [Harris & Levine 1962; 1965; Fadem & Barfield 1981], hoewel er

aanzienlijke verschillen tussen diverse stammen zijn [Whalen, Gladue & Olsen 1986]. De periode waarin het centraal zenuwstelsel het gevoeligst is voor deze werking van testosteron lijkt te liggen in het eerste uur na de geboorte [Thomas, Howard & Barfield 1983]. Castratie -of blokkering van de omzetting van testosteron naar oestradiol- bij neonatale mannetjes, resulteert juist in een toename van lordosegedrag en proceptief gedrag na adequate stimulatie in volwassenheid [Fadem & Barfield 1981].

Naast deze inhiberende werking van testosteron gedurende de neonatale periode op het lordosegedrag in volwassenheid heeft testosteron ook een faciliterende werking. Toediening van testosteron aan neonatale vrouwelijke ratten heeft tot gevolg dat zij in volwassenheid een hoger percentage ejaculatiegedrag vertonen dan vrouwelijke ratten die in de neonatale periode niet behandeld zijn [Harris & Levine 1965; Ward 1969; Södersten 1973; van der Schoot 1980; Thomas, McIntosh & Barfield 1980]. De periode waarin het centraal zenuwstelsel het gevoeligst is voor deze faciliterende werking van testosteron ligt in de eerste 24 uur na de geboorte [Thomas, Barfield & Etgen 1982; Thomas, Howard & Barfield 1983].

Mannelijke ratten die in de neonatale periode gecastreerd zijn, vertonen verminderd ejaculatiegedrag wanneer zij op volwassen leeftijd met testosteron behandeld worden [Gerall, Hendricks, Johnson & Bounds 1967; Beach, Noble & Orndoff 1969; Hart 1979; Whalen & Olsen 1981]. In de neonatale periode worden bij mannelijke ratten aanzienlijke hoeveelheden testosteron in het serum gemeten (tussen 0,5 en 3 ng/ml), voornamelijk afkomstig van de testes [Slob, Ooms & Vreeburg 1980]. Bij intacte mannetjes worden deze hoeveelheden verantwoordelijk geacht voor bovengenoemde inhiberende en faciliterende effecten.

Een probleem bij onderzoeken van seksueel gedrag bij neonataal behandelde ratten is dat diezelfde neonatale behandeling ook effecten heeft op de ontwikkeling van de penis.

Toediening van testosteron rond de geboorte veroorzaakt bij vrouwelijke ratten het tot ontwikkeling komen van een fallus-achtige structuur [Ward 1969; Sachs & Thomas 1985]. Neonatale castratie heeft tot gevolg dat de penis korter blijft en een geringer gewicht heeft. Ook blijft het frenulum aanwezig en zijn er minder verhoornde papillen op de glans penis aanwezig [Gerall, Hendricks, Johnson & Bounds 1967; Beach, Noble & Orndoff 1969; Hart 1979; van der Schoot 1980]. De geobserveerde verschillen in gedrag hoeven dan ook niet veroorzaakt te worden door een directe werking van testosteron op het centraal zenuwstelsel. De mate van ontwikkeling van de penis zou een voldoende verklaring kunnen zijn voor de gevonden gedragsverschillen. Zo laten Beach, Noble en Orndoff [1969] zien dat intromissie-gedrag en penisgewicht covariëren met het tijdstip waarop in de neonatale periode testosteron is toegediend. In 1971 schreef Beach: "we believe that intromission frequency is controlled by penis size" (p 261).

Bij de bestudering van het keuzegedrag in de kruiskooi beïnvloedt de mate van ontwikkeling van de penis het gedrag niet. Bestudering van effecten van neonatale castratie op dit gedrag kan een bijdrage leveren aan de oplossing van de vraag of neonatale androgenen een direct effect hebben op het centraal zenuwstelsel of dat de gevonden gedragsverschillen in paringstests mede veroorzaakt worden door een gebrekkig ontwikkelde penis (ten gevolge van de neonatale castratie).

OPZET

Situatie I

Twaalf mannelijke ratten werden binnen 24 uur na de geboorte gecastreerd. Tot de leeftijd van 3 weken groeiden ze op met mannelijke en vrouwelijke nestgenoten. Na het spenen verbleven

de dieren in isoseksuele groepen. Op de leeftijd van 4 maanden werden ze verdeeld over 3 behandelingsgroepen. De ratten uit de eerste groep kregen subcutaan een siliconen rubber implantaat met testosteron, de ratten uit de tweede groep kregen een oestradiol bevattend implantaat en de dieren uit de derde groep kregen een dihydrotestosteron implantaat. De lengtes en diameters werden bepaald door ervaringen in het laboratorium opgedaan met deze implantaten. De testosteron en oestradiol implantaten herstelden de gedragseffecten van castratie terwijl de hoeveelheden testosteron en dihydrotestosteron uit dit soort implantaten de anatomische effecten van castratie teniet deden [Slob, Bogers & van Stolk 1981; persoonlijke mededeling: JTM Vreeburg]. De karakteristieken van deze implantaten zijn vermeld in tabel 7-1. Twee maanden na implantatie werd bij ieder dier, onder lichte ethernarcose, bloed afgenomen door middel van een intraorbitale punctie met een glas capillair. In het serum werd de concentratie van testosteron, oestradiol en dihydrotestosteron bepaald. De verkregen resultaten zijn eveneens in tabel 7-1 weergegeven.

Tabel 7-1.
Kenmerken van de siliconen rubber implantaten gebruikt voor de toediening van hormonen.

Behan- deling	Lengte (cm)	Diameter (mm)		Gemiddelde ($\pm$ SEM) concentratie in serum (ng/ml)		
		Inwendig	Uitwendig	T	E ₂	DHT
T	1.0	3.0	4.0	3.82 $\pm$ 0.94	nd	nd
E ₂	2.5	0.5	1.0	nd	0.146 $\pm$ 0.0093	nd
DHT	3.0	1.5	2.1	nd	nd	0.55 $\pm$ 0.132

nd=niet detecteerbaar; DHT=dihydrotestosteron; E₂=oestradiol; T=testosteron.

Een maand na implantatie werden de twaalf mannetjes elk in een kruiskooi geplaatst. In elk van de twee stimuluskooitjes was een geovariectomeerde vrouwtje aanwezig. Gedurende 5 weken werd

-alternerend- één van de twee stimulusdieren in bronst gebracht, met behulp van subcutane injecties met oestradiolbenzooat en progesteron (zie hoofdstuk 5). De stimulusdieren werden niet iedere week op dezelfde dag behandeld; wel waren er altijd minimaal 5 nachten tussen de oestradiolbenzooat behandeling van het ene stimulusdier en deze behandeling bij het andere stimulusdier. De resultaten worden weergegeven als kunstmatige cycli van 5 dagen.

Situatie II

Omdat bij analyse van de resultaten de met dihydrotestosteron behandelde neonataal gecastreerde dieren weinig belangstelling toonden voor vrouwelijke soortgenoten, werd besloten de registraties gedurende 13 nachten voort te zetten met een gewijzigde keuzesituatie (situatie II). Tijdens situatie II werd uit stimuluskooitje B het geovariectomeerde vrouwtje verwijderd, terwijl het andere geovariectomeerde stimulusdier in stimuluskooitje D bleef, maar niet in bronst werd gebracht.

RESULTATEN

Iedere behandelingsgroep omvatte 4 neonataal gecastreerde mannetjes. In iedere kruiskooi werd 5 maal één stimulusvrouwtje in bronst gebracht. In totaal waren er per behandelingsgroep 20 vergelijkbare kunstmatige cycli, bestaande uit de twee nachten voor de bronst, de nacht van bronst (na progesteron toediening) en de twee nachten na de bronst. Door storing in de registratie-apparatuur konden bij de met testosteron behandelde dieren gegevens van 2 kunstmatige cycli niet worden verwerkt. Slechts tijdens 7 van de 20 cycli (35%) verbleven de dihydrotestosteron behandelde mannetjes langere tijd bij het vrouwtje tijdens haar bronst dan op de andere nachten van

haar kunstmatige cyclus. Dit lage percentage komt overeen met wat in het vorige hoofdstuk is gevonden bij op volwassen leeftijd gecastreerde en met dihydrotestosteron behandelde mannetjes.

De neonataal gecastreerde mannetjes met een oestradiol implantaat vertoonden gedurende 12 van de 20 cycli (60%) de meeste interesse in het vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst. Ook hier weer geen verschil met de resultaten bij mannetjes die op volwassen leeftijd werden gecastreerd en vervolgens met oestradiol werden behandeld (zie tabel 7-2).

Tabel 7-2.

Percentage van het totaal aantal cycli waarin mannetjes gedurende de nacht de langste tijd doorbrachten bij het bronstige vrouwtje (gegevens afkomstig uit diverse hoofdstukken).

Behandeling	Volwassen gecastreerd					Neonataal gecastreerd				
	%	n	C	S	H	%	n	C	S	H
Implantaat										
Testosteron	80	10	1	N	6*	66	4	5	A	7
Oestradiol	62	4	4	A	6	60	4	5	A	7
Dihydrotestosteron	31	4	4	A	6	35	4	5	A	7
Intact	81	4	4	N	4					
Intact	91	12	1	A	5					

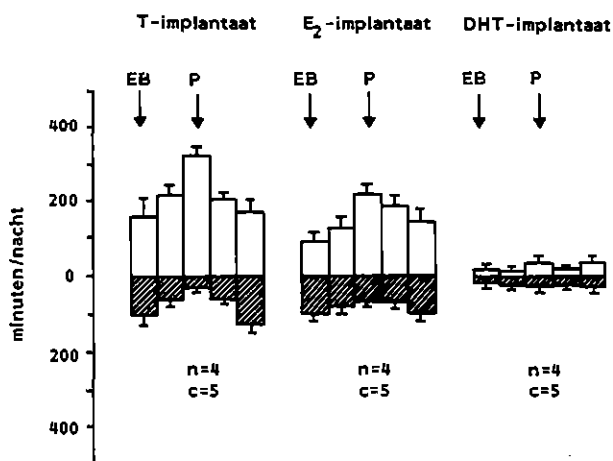
n=aantal dieren; A=artificiële bronst, C=aantal geanalyseerde cycli per dier; N=natuurlijke bronst; H=hoofdstuk waarin experiment beschreven is; S=gebruikt stimulusvrouwtje.

*cyclusunummer 14, ongeveer na 3,5 maand T-implantaat.

Testosteron behandeling van neonataal gecastreerde ratten resulteerde er in dat zij deze voorkeur voor het bronstige vrouwtje gedurende 12 van de 18 kunstmatige cycli (66%) vertoonden. Ook dit is vrijwel identiek met de vondsten bij mannetjes die op volwassen leeftijd waren gecastreerd en vervolgens werden gesubstitueerd met testosteron. Tabel 7-2 geeft een overzicht van het percentage mannetjes dat dit gedrag vertoonde in de diverse experimenten uit dit hoofdstuk en vorige hoofdstukken. In de tabel is ook aangegeven of de stimulusdieren

kunstmatig dan wel op natuurlijke wijze in bronst kwamen.

In figuur 7-1 is de gemiddelde verblijfsduur weergegeven gedurende de nacht. Voor ieder dier ($n=4$) is de gemiddelde verblijfsduur (Y_n) bij het vrouwtje gedurende de 5 overeenkomstige nachten van de kunstmatige cyclus uitgerekend. Iedere kolom in figuur 7-1 geeft het gemiddelde ($Y_{1-4}/4$) van de vier individuele gemiddelden (Y_n) weer. De figuur laat zien dat de neonataal gecastreerde mannetjes, die met oestradiol of testosteron behandeld werden, gedurende de nacht van bronst langer bij het bronstige vrouwtje verbleven dan gedurende andere nachten (Friedman $K_T=100$, $p<0,05$; $K_{E_2}=154$, $p<0,01$). Bij de met dihydrotestosteron behandelde neonataal gecastreerde dieren is een dergelijke toename niet te zien. Opvallend is verder de geringe belangstelling die deze met dihydrotestosteron behandelde



Figuur 7-1. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur bij geovariectomeerde stimulusdieren door neonataal gecastreerde mannelijke ratten, die op volwassen leeftijd met testosteron (T), oestradiol (E₂) of dihydrotestosteron (DHT) werden behandeld. Een van de twee geovariectomeerde stimulusdieren werd met oestradiolbenzoesaat (EB) en progesteron (P) behandeld (witte kolommen).

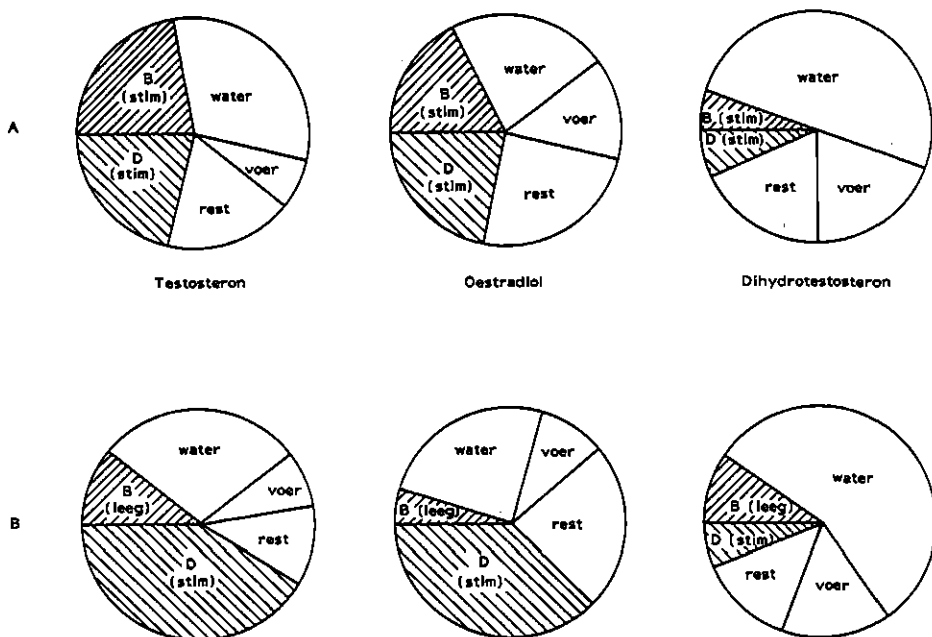
dieren vertonen voor een vrouwelijke soortgenoot. In het vorige hoofdstuk zijn effecten beschreven van dihydrotestosteron toediening aan mannetjes die op volwassen leeftijd waren gecastreerd. Deze mannetjes toonden wel belangstelling voor een vrouwelijke soortgenoot hoewel er geen toename was in verblijfsduur gedurende de nacht van bronst van het vrouwtje.

De totale locomotore activiteit, uitgedrukt als het totaal aantal excursies gedurende de nacht naar de vier eindkooitjes, is lager bij de neonataal gecastreerde dieren die met dihydrotestosteron behandeld werden dan bij de neonatale castraten die met oestradiol of testosteron behandeld werden (tabel 7-3; Kruskal & Wallis: $H=5,65$, $p<0,05$). Omdat ook het aantal excursies naar de vrouwtjes gedurende de nacht van haar bronst in de dihydrotestosteron groep het laagst was, is in tabel 7-3 het aantal excursies naar het bronstige vrouwtje uitgedrukt als percentage van het totaal aantal excursies gedurende die nacht. Er was geen statistisch significant verschil tussen deze percentages bij de drie behandelingsgroepen (Kruskal & Wallis: $H=4,30$, ns). Met andere woorden: de met dihydrotestosteron behandelde neonataal gecastreerde dieren maakten weliswaar minder excursies naar de vier eindkooitjes, maar verhoudingsgewijs werd het bronstige vrouwtje door hen even frequent bezocht als door de met testosteron of oestradiol behandelde castraten.

Tabel 7-3.

Locomotore activiteit gedurende de nacht bij de 3 behandelingsgroepen neonataal gecastreerde mannetjes.

Behandeling	Gemiddeld ($\pm$ SEM) aantal excursies naar de 4 eindkooitjes	Aantal excursies naar het bronstige vrouwtje als percentage van het totaal aantal excursies gedurende die nacht
Testosteron	99 $\pm$ 24.0	37 $\pm$ 1.8
Oestradiol	143 $\pm$ 37.3	31 $\pm$ 1.9
Dihydrotestosteron	54 $\pm$ 10.4	27 $\pm$ 3.9



Figuur 7-2.
 Gemiddelde nachtelijke verblijfsduur in de diverse eindkooitjes door neonataal gecastreerde mannelijke ratten die op volwassen leeftijd met testosteron, oestradiol of dihydrotestosteron werden behandeld. Figuur 7-2A heeft betrekking op 13 nachten waarin zowel boven eindkooitjes B als eindkooitje D een stimulusdier (stim) aanwezig was. Figuur 7-2B heeft betrekking op 13 nachten waarin alleen boven eindkooitje D een stimulusdier aanwezig was. Rest=verblijfsduur in centrale ruimte en de vier gangetjes.

In figuur 7-2 zijn de verblijfsduren van de drie behandelingsgroepen in de vier eindkooitjes te zien. In tabel 7-4 zijn de gegevens waarop figuur 7-2 is gebaseerd vermeld. Figuur 7-2A heeft betrekking op de laatste 13 nachten van het eerste gedeelte van het experiment waarbij de twee stimulusdieren alternerend in bronst werden gebracht (situatie I). Figuur 7-2B toont de verblijfsduur gedurende de 13 nachten dat er boven eindkooitje B geen stimulusdier aanwezig was (situatie II). Te zien is dat gedurende situatie I de met dihydrotestosteron behandelde dieren nauwelijks in de eindkooitjes B en D verbleven, terwijl de dieren uit de twee andere behandelingsgroepen wel

Tabel 7-4.
Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur in de 4 eindkooitjes van de kruiskooi door neonataal gecastreerde mannelijke ratten die met testosteron, oestradiol of dihydrotestosteron werden behandeld ($n_1=n_2=n_3=4$).

Eindkooitje	B		D	
	Stim.dier I	Leeg II	Stim.dier I	Stim.dier II
Behandeling				
Testosteron (T)	134±16.1	62±12.9	133±17.8	249±57.8
Oestradiol (E_2)	106±40.0	38±20.1	133±32.6	228±45.5
Dihydrotestosteron (DHT)	32± 5.9	54±10.4	38±12.9	35± 6.1
	p<0.05	ns	p<0.05	p<0.01

	A Water		C Voer		Rest	
	I	II	I	II	I	II
T	191±27.2	173±34.5	43±10.2	44± 9.4	102±25.3	63±25.3
E_2	132±41.9	154±58.9	82±29.5	59± 9.3	144±70.8	119±57.0
DHT	294±47.0	363±47.8	118±37.4	91±28.6	52±19.8	63±17.3
	p<0.01	ns	ns	ns	ns	ns

I=gemiddelde van 13 nachten terwijl boven eindkooitjes B en D een stimulusdier aanwezig was; II=gemiddelde van 13 nachten terwijl alleen boven eindkooitje D een stimulusdier aanwezig was; rest=verblijfsduur in centrale ruimte+gangetjes.

belangstelling toonden voor de dieren in de stimuluskooitjes (Kruskal & Wallis: eindkooitje B: $H=7,00$, $p<0,05$; eindkooitje D: $H=5,69$, $p<0,05$). Gedurende situatie II vertoonden de neonataal gecastreerde mannetjes die met testosteron of oestradiol behandeld werden, evenveel belangstelling voor eindkooitje B (waarboven dus geen stimulusdier aanwezig was) als de mannetjes die met dihydrotestosteron behandeld werden (Kruskal & Wallis: $H=0,80$, ns). De verblijfsduur in eindkooitje D vertoonde gedurende situatie II wel significante verschillen tussen de drie behandelingsgroepen (Kruskal & Wallis: $H=7,50$, $p<0,05$). De dieren die met oestradiol of testosteron werden behandeld toonden meer belangstelling voor het stimulusdier boven eindkooitje D, dan de met dihydrotestosteron behandelde neonataal gecastreerde dieren.

BESPREKING

Omdat aanwezigheid van testosteron in de neonatale periode bij de rat een faciliterend effect heeft op het optreden van ejaculatiegedrag op volwassen leeftijd [Ward 1969, Thomas, McIntosh & Barfield 1980, Thomas, Howard & Barfield 1983], is in dit hoofdstuk het effect van neonatale castratie op het keuzegedrag van de mannelijke rat in de kruiskooi bestudeerd. Het experiment in dit hoofdstuk laat zien dat neonataal gecastreerde mannetjes, die op volwassen leeftijd met testosteron of oestradiol behandeld worden, geïnteresseerd zijn in een bronstige vrouwelijke rat, net als intacte mannetjes. Testosteron in de neonatale periode lijkt niet noodzakelijk te zijn om in volwassenheid bij adequate hormonale stimulatie een voorkeur te vertonen. Deze bevinding is in overeenstemming met die van Stern [1970]. Ook deze auteur nam waar dat neonataal gecastreerde mannetjes, die op volwassen leeftijd met testosteron werden behandeld meer interesse hadden in een genarcotiseerd, kunstmatig in bronst gebracht vrouwtje dan in een genarcotiseerde niet-bronstige vrouwelijke soortgenoot. De testopstelling die Stern gebruikte was een vrije veld opstelling waarin de dieren slechts vijf minuten werd getest. Verder waren de te onderzoeken dieren bij Stern niet seksueel naief: in de weken voorafgaande aan de test hadden de met testosteron behandelde neonataal gecastreerde mannetjes tweemaal 90 minuten met een bronstig vrouwtje in een kooitje doorgebracht. Ook Eliasson en Meyerson [1981] onderzochten neonataal gecastreerde mannetjes in een vrije veld situatie, waarbij de mannetjes konden verblijven in de nabijheid van een bronstig vrouwtje, in de nabijheid van een intact mannetje of in een zogenaamd neutraal gebied gelegen tussen het bronstige vrouwtje en het intacte mannetje. De keuzesituatie was dus anders dan in de experimenten van Stern en van dit hoofdstuk. De dieren werden getest op de leeftijd van

30, 50, 70, 90 en 120 dagen, zonder dat ze gesubstitueerd werden met testosteron. De tests duurden 25 minuten. Deze neonataal gecastreerde mannetjes brachten vanaf de derde test, op de leeftijd van 70 dagen, meer tijd door bij het kunstmatig in bronst gebrachte stimulusvrouwje dan bij het intacte stimulusmannetje. Intacte mannetjes vertoonden in hun experimenten al een voorkeur voor een bronstig vrouwje ten opzichte van een intact mannetje gedurende de eerste test, op de leeftijd van 30 dagen [Eliasson & Meyerson 1981]. Deze intacte mannetjes brachten ook 40 tot 50 procent van hun tijd door bij het bronstige vrouwje terwijl de neonataal gecastreerde mannetjes, die niet met testosteron werden behandeld, slechts 30 procent van de testtijd in de nabijheid van het bronstige dier vertoefden. Volgens deze auteurs moet de verklaring voor deze voorkeur van neonatale castraten om -zonder testosteron toediening- meer in de nabijheid van een bronstig vrouwje dan in de nabijheid van een mannetje te zitten, gezocht worden in de herhaalde blootstelling aan een bronstig vrouwje gedurende het testen.

In eerdere experimenten hadden Meyerson, Eliasson en Hetta [1979] gevonden dat testosteron toediening op volwassen leeftijd aan neonataal gecastreerde ratten de belangstelling om in de nabijheid van een bronstig vrouwje te zitten vergrootte ten koste van de verblijfsduur in het neutrale gebied. Oestradiolbenzooat toediening door middel van subcutane injecties op volwassen leeftijd aan neonataal gecastreerde ratten leidde echter tot een toename in verblijfsduur in de nabijheid van het intacte mannetje, terwijl de verblijfsduur bij het bronstige vrouwje even lang was als bij een niet behandelde controle groep van neonataal gecastreerden. Dit effect van oestradiol toediening lijkt in tegenspraak met de resultaten van de experimenten uit dit hoofdstuk. De keuzesituatie -intact mannetje versus bronstig vrouwje bij Meyerson et al en

niet-bronstig vrouwtje versus bronstig vrouwtje in de experimenten uit dit proefschrift, alsmede het verschil in testomstandigheden -minuten durende vrije veld observatie versus weken durende registratie- kunnen een verklaring zijn. Echter, Meyerson et al behandelden deze neonataal gecastreerde mannetjes gedurende 10 dagen elke tweede dag met oestradiolbenzooat in een dosis van 25 $\mu\text{g/kg}$. Vervolgens werden ze 52 uur na de laatste oestradiol behandeling getest. Uit de literatuur is bekend dat deze dosis oestradiolbenzooat op dit tijdstip receptief gedrag bij ratten induceert [Zemlan & Adler 1977]. Ook induceert deze dosis bij ongeveer 50 procent van de vrouwtjes proceptief gedrag [Tennent, Smith & Davidson 1980].

De neonataal gecastreerde mannetjes die met dihydrotestosteron waren behandeld toonden weinig belangstelling voor een vrouwelijke soortgenoot. Dit in tegenstelling tot dieren die op volwassen leeftijd waren gecastreerd en vervolgens met dihydrotestosteron werden behandeld. Deze laatste dieren waren wel geïnteresseerd in een vrouwelijke soortgenoot, maar toonden geen toegenomen belangstelling voor haar gedurende de nacht van haar bronst (zie hoofdstuk 6). Uit tabel 7-3 blijkt dat dit niet rechtstreeks samenhangt met een verminderd aantal excursies naar de stimulusdieren. Immers, hoewel de totale locomotore activiteit laag was bij de dihydrotestosteron behandelingsgroep brachten deze neonataal gecastreerde dieren procentueel evenveel bezoeken aan de eindkooitjes waar een stimulusdier boven zat als de neonatale castraten die met oestradiol of testosteron werden behandeld. De gegevens in figuur 7-2 doen vermoeden dat neonataal gecastreerde ratten, die met dihydrotestosteron behandeld worden, geen onderscheid maken tussen een eindkooitje waarboven een soortgenoot zit en een eindkooitje waarboven het stimuluskooitje leeg is. Nader onderzoek naar effecten van dihydrotestosteron op keuzegedrag en locomotore activiteit is nodig om deze niet te verklaren effecten

van dihydrotestosteron behandeling bij neonataal gecastreerde ratten op te helderen. In de literatuur zijn geen aanwijzingen te vinden om het gedrag van de dieren uit deze behandelingsgroep te verklaren.

SAMENVATTING

In dit hoofdstuk is onderzocht in hoeverre neonatale castratie een effect heeft op keuzegedrag in de kruiskooi. Gebleken is dat bij de rat de testes in de neonatale periode niet noodzakelijkerwijs aanwezig hoeven te zijn om in volwassenheid -na toediening van testosteron of oestradiol- een voorkeur te tonen voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Dihydrotestosteron behandeling van neonataal gecastreerde ratten had tot gevolg dat deze dieren nauwelijks belangstelling toonden voor vrouwelijke soortgenoten. Een verklaring voor dit gedrag werd niet gevonden. Er zijn geen aanwijzingen gevonden dat deze voorkeur voor een bronstig vrouwtje "georganiseerd" wordt door testiculaire hormonen in de neonatale periode.

HOOFDSTUK 8

KEUZEGEDRAG VAN GEOVARIECTOMEERDE VROUWELIJKE RATTEN NA TOEDIENING VAN DIVERSE HORMONEN

INLEIDING

Volwassen vrouwelijke ratten kunnen beklim- en intromissiegedrag vertonen wanneer ze getest worden met bronstige vrouwelijke soortgenoten [Moore 1919; Beach 1938; Beach 1942b]. Beach en Rasquin [1942] onderzochten de relatie tussen beklimgedrag en de bronstcyclus. Zij observeerden de gedragingen van een vrouwtje wanneer zij achtereenvolgens met een bronstig vrouwtje, met een intact mannetje, met dit intacte mannetje plus een bronstig vrouwtje en tenslotte met dit bronstige vrouwtje alleen in de testruimte verbleef. Tijdens haar ovariële cyclus varieerde de lordosefrequentie van het vrouwtje in dit experiment wel, maar het beklimgedrag van dit vrouwtje niet. Ook ovariectomie beïnvloedde de frequentie van haar beklimgedrag niet. Södersten [1972] onderzocht het beklimgedrag van intacte vrouwtjes in een testsituatie waarbij het experimentele vrouwtje alleen met een bronstig vrouwtje werd samengebracht. Hij vond in tegenstelling tot Beach en Rasquin [1942] een duidelijke daling in het aantal beklimningen door het experimentele vrouwtje gedurende haar bronst. Ovariectomie leidde tot een nog verdere afname in de beklimfrequentie. Het besnuffelen van de anogenitaal streek van een bronstig stimulusdier door een intact vrouwtje gebeurde minder frequent gedurende de bronst van dit intacte vrouwtje dan op andere dagen van haar ovariële cyclus. Het verschil in testprocedures verklaart mogelijk de verschillen

in resultaten tussen de experimenten van Beach en Rasquin [1942] en die van Södersten [1972]. Immers, het is alleszins aannemelijk dat de aanwezigheid van een mannetje gedurende een gedeelte van de test invloed heeft op de interactie tussen twee vrouwtjes.

Het beklim- en intromissiegedrag van vrouwtjes lijkt op paringsgedrag van intacte mannetjes. Ook de hormonale afhankelijkheid van dit gedrag vertoont bij vrouwtjes overeenkomsten met die bij mannetjes. Toediening van testosteron of oestradiol aan geovariectomeerde vrouwtjes veroorzaakt een toename in de frequentie van beklimgedrag [Beach 1968; Södersten 1972; Baum, Södersten & Vreeburg 1974; van de Poll, van der Zwan, van Oyen, & Pater 1982; Slob & van der Schoot 1982; Slob & Vreeburg 1985; de Jonge, Burger & van de Poll 1986].

In hoofdstuk 6 is beschreven dat er een parallel is tussen het effect van castratie op copulatiegedrag en het effect van castratie op het gedrag in de kruiskooi: castratie van mannelijke ratten leidde tot een geleidelijk verdwijnen van de voorkeur van deze dieren om in de nabijheid te zitten van een bronstige vrouwelijke soortgenoot, terwijl bekend is dat castratie ook leidt tot een geleidelijke afname in copulatiegedrag. Toediening van testosteron aan de gecastreerde dieren leidde tot een terugkeer van de voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot, terwijl toediening van testosteron ook de effecten van castratie op copulatiegedrag doet verdwijnen.

In dit hoofdstuk zal onderzocht worden in welke mate hormonale behandelingen, waarvan bekend is dat zij invloed hebben op het optreden van beklim- en intromissiegedrag bij het vrouwtje, ook invloed hebben op haar voorkeur voor een bronstige soortgenoot. Hiertoe zijn drie experimenten uitgevoerd, waarin geovariectomeerde vrouwtjes als looppier zijn gebruikt. In

experiment 1 wordt het vrouwelijke loopdier door een behandeling met hormonen in bronst gebracht om de invloed hiervan op haar keuzegedrag in de kruiskooi te onderzoeken. In experiment 2 wordt het effect van testosteron toediening aan het geovariectomeerde loopdier op haar keuzegedrag onderzocht, terwijl in experiment 3 de effecten van toediening van oestradiol en dihydrotestosteron aan het geovariectomeerde loopdier op haar keuzegedrag wordt bestudeerd.

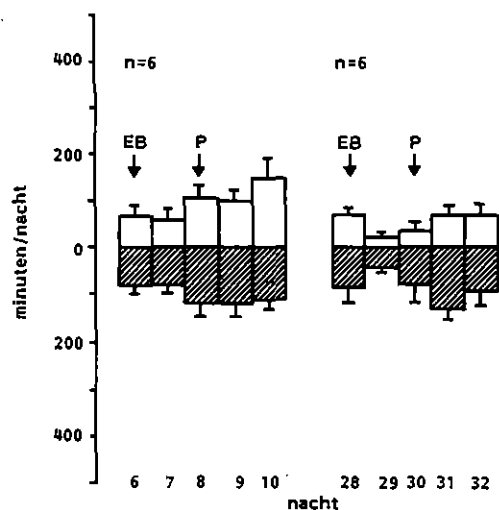
Experiment 1: Effect van kunstmatig geïnduceerde bronst

Opzet

Zes vrouwelijke ratten, na het spenen in isoseksuele groepen opgegroeid, werden op volwassen leeftijd geovariectomeerd. Na enige tijd werden ze in de kruiskooi gehuisvest. Als stimulusdieren waren geovariectomeerde vrouwtjes aanwezig. Na een gewenningsperiode van 5 dagen werd aan ieder loopdier en aan één van de twee stimulusdieren een subcutane injectie met 2,5 μ g oestradiolbenzooat gegeven om ongeveer 16.00 uur. Twee dagen later kregen deze dieren een subcutane injectie van 0,5 mg progesteron. Veertien dagen later werden deze behandelingen herhaald, opnieuw bij het loopdier en nu bij het andere stimulusdier (in de tussenliggende periode van veertien dagen waren de dieren niet uit hun kruiskooi geweest).

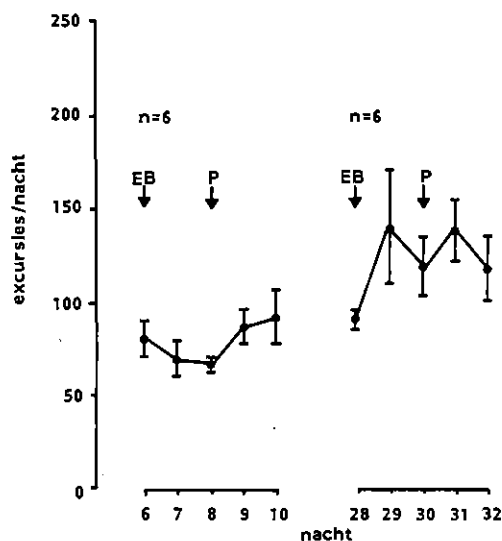
Resultaten

De bronstige vrouwtjes vertoonden geen voorkeur voor een bronstig stimulusvrouwtje, zoals te zien is in figuur 8-1. Gedurende geen van beide testsituaties verbleef een van de loopdieren de langste tijd bij het stimulusvrouwtje gedurende de nacht van beider bronst. In figuur 8-2 is te zien dat ook het aantal excursies naar de vier eindkooitjes gedurende de



Figuur 8-1. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van geovariectomeerde vrouwtjes bij geovariectomeerde stimulusdieren. Zowel het looppdier als één stimulusdier (witte kolommen) werden met oestradiolbenzoaat (EB) en progesteron (P) behandeld. De nummering op de X-as geeft de nacht na plaatsing in de kruiskooi aan.

kunstmatige cyclus van het looppdier niet veranderde (Friedman: $K_1=57$, ns; $K_2=125$, ns). Dit is niet in overeenstemming met de resultaten van Schenck, van der Giessen, Slob en van der Werff ten Bosch [1978], die de locomotore activiteit van intacte vrouwelijke ratten in nagenoeg dezelfde kruiskooi (doch zonder stimulusdieren) hebben onderzocht. Deze onderzoekers vonden een toename in de locomotore activiteit gedurende het etmaal van natuurlijke vaginale oestrus van het looppdier. Daarom is in het huidige experiment nagegaan of er een effect van de kunstmatige cyclus op het aantal excursies naar de individuele eindkooitjes gevonden kon worden. Alleen tijdens de eerste kunstmatige cyclus maakten de vrouwtjes in de tweede nacht na oestradiolbenzoaat toediening meer excursies naar het eindkooitje met de waterfles (Friedman: $K=170$, $p<0,05$). Verder werden er geen significante



Figuur 8-2. Gemiddeld ($\pm$ SEM) aantal excursies per nacht naar de vier einkooitjes door geovariectomeerde ratten. De pijlen (EB, P) geven het moment aan waarop één stimulusdier en het looppier met hormonen werden behandeld.

verschillen in het aantal excursies gedurende de verschillende nachten van een kunstmatige cyclus gevonden. Ook wanneer het aantal excursies per etmaal werd beschouwd was er geen effect van de kunstmatige cyclus op de locomotore activiteit waarneembaar.

Experiment 2: Effect van langdurige testosteron toediening

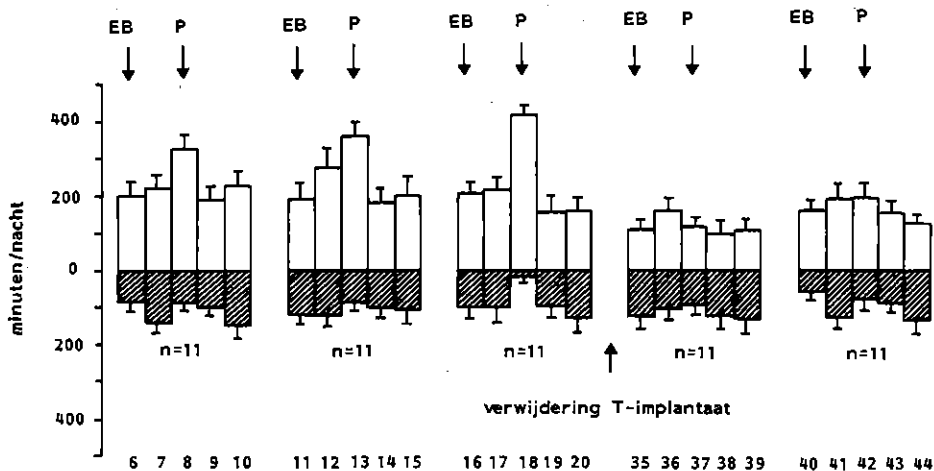
Opzet

Elf vrouwelijke ratten werden op de leeftijd van 4 maanden geovariectomeerd. Tijdens diezelfde narcose werd er een siliconen rubber implantaat met testosteron onderhuids in de nek geplaatst (zie voor de karakteristieken van dit implantaat tabel 7-1). Een maand na de operatie werden de dieren in een kruiskooi geplaatst, terwijl de geovariectomeerde stimulusdieren aanwezig

waren. Een week later werd bij de loopdieren bloed verzameld om het testosterongehalte in het serum te bepalen. Het gemiddelde ($\pm$ SEM) serum testosterongehalte bedroeg $2,4 \pm 0,18$ ng/ml (spreiding: 1,6-3,4 ng/ml). Iedere week werd beurtelings één van de twee geovariectomeerde stimulusvrouwtjes in bronst gebracht met behulp van oestradiol en progesteron. Na de derde cyclus werd bij de loopdieren het testosteron implantaat verwijderd. Door corrosie op contacten in de registratieapparatuur vonden er gedurende de eerste 2 weken na verwijdering van de implantaten in het geheel geen registraties plaats. Wel werden de stimulusvrouwtjes allebei eenmaal in bronst gebracht. Veertien dagen na de verwijdering van het implantaat vonden er weer registraties plaats. De beide stimulusdieren werden ieder nog eenmaal in bronst gebracht. In totaal zijn er gedurende 5 kunstmatige cycli gegevens verzameld.

Resultaten

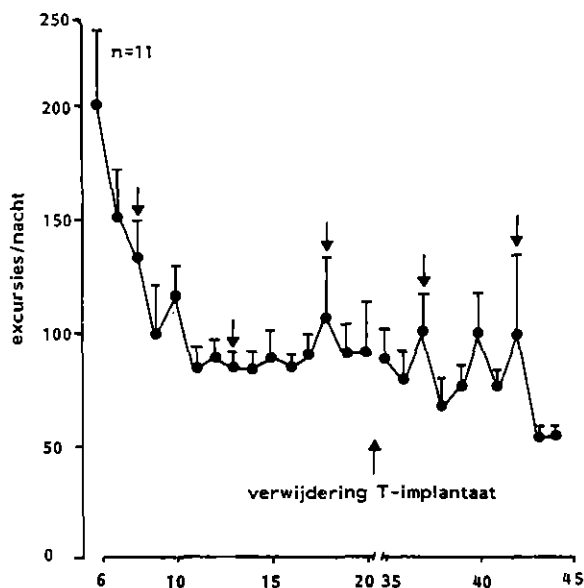
Geovariectomeerde vrouwelijke loopdieren toonden een voorkeur om in de nabijheid van een bronstige vrouwelijke soortgenoot te verblijven zolang zij met testosteron behandeld werden (figuur 8-3). De verblijfsduur bij een stimulusvrouwtje was significant langer gedurende de nacht van haar bronst dan tijdens andere nachten van haar cyclus (Friedman: $K_1=376$, $p<0,05$; $K_2=456$, $p<0,01$; $K_3=562$, $p<0,01$). Gedurende deze eerste drie kunstmatige cycli brachten respectievelijk 54, 63 en 100 procent van de loopdieren meer tijd door bij het vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst in vergelijking met de 2 nachten voor en de 2 nachten na de nacht van bronst. Na verwijdering van het testosteron implantaat bedroeg dit percentage respectievelijk 18 en 27. Figuur 8-3 laat dit laatste op een andere wijze zien: na verwijdering van het testosteron implantaat is er geen toename meer in verblijfsduur bij een bronstig stimulusvrouwtje (Friedman: $K_4=154$, ns; $K_5=34$, ns).



Figuur 8-3.
 Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur van geovariectomeerde vrouwtjes bij geovariectomeerde stimulusdieren. De loopdieren hadden een testosteron implantaat dat na nacht 20 werd verwijderd. De stimulusdieren werden met oestradiolbenzoaat (EB) en progesteron (P) behandeld.

De locomotore activiteit (zie figuur 8-4) laat in de periode van nacht 6 tot en met 11 een daling zien in het aantal excursies: het bekende fenomeen van adaptatie in de kruiskooi zoals beschreven is in hoofdstuk 3 (opgemerkt zij dat de eerste nacht van de registratie overeenkomt met de zesde nacht van het verblijf in de kruiskooi: de adaptatieperiode bedroeg in dit experiment dus ook 10 dagen). Vanaf nacht 11 blijft het aantal excursies op eenzelfde niveau van ongeveer 80 excursies per nacht naar alle 4 eindkooitjes tezamen. Toetsing van het aantal excursies gedurende de nachten 11 tot en met 20 en de nachten 35 tot en met 44 leerde dat verwijdering van het testosteron implantaat geen effect had op de totale nachtelijke locomotore activiteit (rangtekentoets: $V=40$, ns). Hoewel niet afgebeeld maakten de loopdieren gedurende de behandeling met testosteron -dus gedurende de eerste 3 cycli- meer excursies naar het

stimulusvrouwdje in de nacht van haar bronst dan gedurende andere nachten (Friedman: $K_1=756$, $p<0,01$; $K_2=456$, $p<0,01$; $K_3=519$, $p<0,01$). Na verwijdering van het implantaat werd deze toename in aantal excursies naar het bronstige vrouwdje niet meer waargenomen.



Figuur 8-4. Gemiddeld (+ SEM) aantal nachtelijke excursies naar de vier eindkooitjes door geovariectomeerde looppieren die tot en met nacht 20 een testosteron implantaat hadden.

Experiment 3: Effect van langdurige oestradiol en dihydrotestosteron toediening

Opzet

Eerste gedeelte

Twaalf vrouwelijke ratten, die onder de gebruikelijke laboratorium omstandigheden waren opgegroeid, werden op de leeftijd van 4 maanden geovariectomeerd. Tevens werd bij zes van deze vrouwtjes subcutaan in de nek een siliconen rubber implantaat met dihydrotestosteron geplaatst. De overige zes dieren kregen een implantaat met oestradiol. De implantaten hebben dezelfde karakteristieken als de implantaten die in hoofdstuk 7 werden gebruikt (zie tabel 7-1). Een maand na de operatie werden deze vrouwtjes in de kruiskooi geplaatst. In beide stimuluskooitjes waren geovariectomeerde vrouwtjes aanwezig. Na een week werd één van de stimulusvrouwtjes op gebruikelijke wijze in bronst gebracht met oestradiol en progesteron. Een week later werd het andere stimulusdier in bronst gebracht. Vervolgens was er een periode van 3 weken waarin geen van beide stimulusdieren werd behandeld. Na afloop van deze periode werd elk van de stimulusdieren nog eenmaal in bronst gebracht met een week tussen de behandeling van het ene dier en van het andere dier. Aan het eind van dit gedeelte van het experiment werd op de gebruikelijke wijze bloed verzameld van de looppieren voor bepaling van het serum gehalte van toegediende hormonen.

Tweede gedeelte

Nadat bloed was afgenomen kregen de geovariectomeerde vrouwtjes die een dihydrotestosteron implantaat hadden, een oestradiol bevattend implantaat erbij. De vrouwtjes met een oestradiol implantaat kregen er een implantaat met

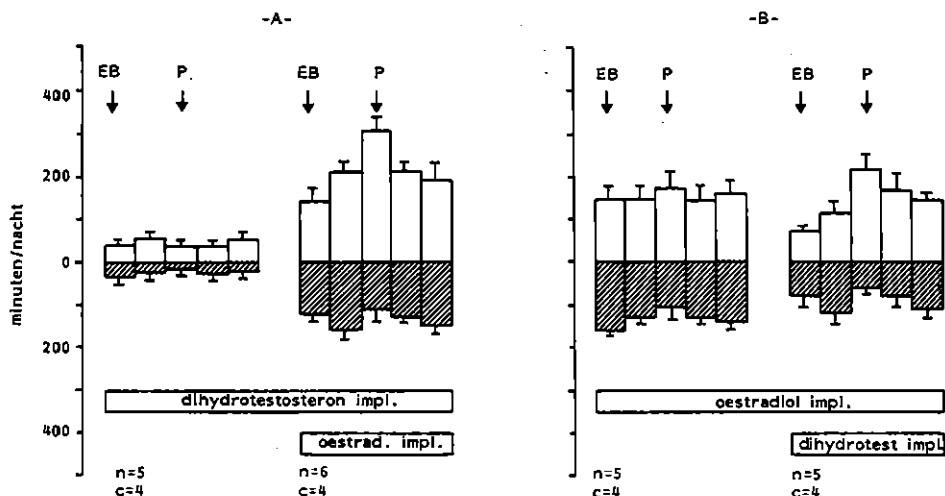
dihydrotestosteron bij. Vanaf veertien dagen na deze operatie -gedurende welke tijd de loopdieren in hun kruiskooi verbleven- werd er gedurende 4 weken iedere week één van de twee stimulusdieren in brons gebracht. Zes weken na het aanbrengen van het tweede implantaat werd er bij de loopdieren bloed afgenomen ter bepaling van de serum concentraties van toegediende hormonen.

Resultaten

Gedurende het eerste gedeelte van het experiment konden per behandelingsgroep gegevens van 5 dieren verwerkt worden. Per dier zijn de gegevens van de vier overeenkomstige dagen in de vier kunstmatige cycli samengenomen en gemiddeld. In figuur 8-5A is in het linker gedeelte de gemiddelde nachtelijke verblijfsduur bij de beide stimulusdieren van de met dihydrotestosteron behandelde dieren weergegeven. Figuur 8-5B laat in het linker histogram hetzelfde zien voor de geovariectomeerde dieren die met oestradiol behandeld werden.

Geovariectomeerde vrouwelijke ratten, die behandeld werden met dihydrotestosteron toonden weinig belangstelling voor vrouwelijke soortgenoten (figuur 8-5A linkergedeelte). Van een toename in verblijfsduur gedurende de nacht van brons van het stimulusvrouwje is geen sprake (Friedman: $K=13$, ns). Het gedrag van deze vrouwtjes vertoont overeenkomsten met dat van neonataal gecastreerde mannetjes, die ook weinig belangstelling toonden voor een vrouwelijke soortgenoot wanneer deze mannetjes op volwassen leeftijd met dihydrotestosteron werden behandeld (zie hoofdstuk 7).

De geovariectomeerde vrouwtjes die met oestradiol behandeld werden toonden wel belangstelling voor vrouwelijke soortgenoten (figuur 8-5B linkergedeelte). Er was bij deze met oestradiol behandelde geovariectomeerde vrouwtjes evenwel geen toename in de nachtelijke verblijfsduur bij het bronstige stimulusvrouwje



Figuur 8-5.
Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van geovariectomeerde ratten bij stimulusdieren. De horizontale balken geven aan met welke hormonen de loofdieren (via een implantaat) werden behandeld. De pijlen (EB, P) geven de momenten aan waarop een van de twee stimulusdieren met hormonen werd behandeld.

(Friedman: $K=70$, ns), in tegenstelling tot hetgeen bij neonataal gecastreerde op volwassen leeftijd met oestradiol behandelde mannetjes is gevonden (zie hoofdstuk 7). Wanneer aan deze met oestradiol behandelde vrouwtjes ook een dihydrotestosteron implantaat werd gegeven, dan was er wel sprake van een toename in verblijfsduur gedurende de nacht van bronst van een stimulusvrouwtje in vergelijking met andere dagen van haar cyclus (Friedman: $K=143$, $p<0,05$; zie het rechter gedeelte van figuur 8-5B). Bij vrouwtjes met een dihydrotestosteron implantaat veroorzaakte de toevoeging van een oestradiol implantaat een significante toename in de verblijfsduur bij het bronstige vrouwtje (figuur 8-5A rechtergedeelte: Friedman: $K=238$, $p<0,01$). In figuur 8-5A valt ook de toename in verblijfsduur bij beide stimulusdieren op. Dit is verder uitgewerkt in tabel 8-1,

Tabel 8-1.

Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur door 2 groepen geovariectomeerde loopdieren bij geovariectomeerde stimulusdieren gedurende 4 kunstmatige cycli. Gedurende het eerste gedeelte (I) werden de geovariectomeerde (ovex) dieren met of alleen dihydrotestosteron (DHT) of alleen oestradiol (E_2) behandeld. In het tweede gedeelte (II) kregen de DHT-ovex loopdieren er een E_2 implantaat bij; de E_2 -ovex loopdieren kregen een DHT implantaat erbij.

	Verblijfsduur bij behandeld stimulusdier			Verblijfsduur bij onbehandeld stimulusdier		
	I	II		I	II	
DHT-ovex (n=5)	42±10.2	208±35.0	p<0.1	32± 7.8	142±21.2	p<0.1
E_2 -ovex (n=5)	148±34.1	148±20.4	ns	133±17.4	87±17.3	ns
	p<0.05	ns		p<0.05	ns	

waar de gemiddelde verblijfsduur bij de stimulusdieren voor en na plaatsing van het tweede implantaat zijn weergegeven. Toediening van oestradiol aan geovariectomeerde met dihydrotestosteron behandelde vrouwtjes had een toename tot gevolg in verblijfsduur bij beide stimulusdieren. Het plaatsen van een dihydrotestosteron implantaat bij geovariectomeerde vrouwtjes die al een oestradiol implantaat hadden leidde niet tot een significante verandering in de verblijfsduur bij de stimulusdieren. Alleen de verdeling van die verblijfsduur over de diverse nachten onderging een verandering. Immers, er werd meer tijd doorgebracht bij het bronstige stimulusdier. Tabel 8-2 vermeldt de gevonden hormoon concentraties.

BESPREKING

De gegevens uit experiment 1 laten zien dat een geovariectomeerd vrouwtje, dat met oestradiolbenzooat en progesteron in bronst was gebracht, weinig belangstelling toont

Tabel 8-2.
Gemiddelde (+ SEM) serum concentraties (ng/ml) van oestradiol (E₂) en dihydrotestosteron (DHT) plus androstaan-3 α -17 β -diol (A²-diol).

	DHT-ovex (n=5) I	DHT+E ₂ -ovex (n=5) II	E ₂ -ovex (n=5) I	E ₂ +DHT-ovex (n=5) II
E ₂	0.192±0.0181	0.286±0.0371	0.282±0.0315	0.382±0.0261
DHT+A ² -diol	3.15 ±0.963	2.45 ±0.143	0.95 ±0.359	3.78 ±0.236

* =metaboliët van DHT.

I=situatie waarbij de geovariectomeerde dieren slechts 1 implantaat hadden;

II=situatie waarbij de geovariectomeerde dieren 2 verschillende implantaten hadden.

voor een ander bronstig of niet-bronstige vrouwtje. Tijdens de bronst van zowel het loopdier als één van de twee stimulusdieren is er ook geen toe- of afname te zien in de tijd die het bronstige loopdier bij een van beide stimulusdieren doorbrengt. Ook de nachtelijke locomotore activiteit, gemeten aan het aantal excursies naar alle vier de eindkooitjes gedurende de nacht, laat geen toename zien gedurende de nacht van bronst van het loopdier. In experimenten van Schenck, van der Giessen, Slob en van der Werff ten Bosch [1978] werd wel een toename in locomotore activiteit gezien gedurende de natuurlijke vaginale bronst van het intacte loopdier. Ook bij andere vormen van activiteitsmeting, zoals met de tredmolen [Wang 1923; Slonaker 1925] of in een complex doolhof [Martin & Bättig 1980], werd een toename in locomotore activiteit gezien gedurende de bronst. De vraag rijst of de hormonale behandeling van de geovariectomeerde loopdieren wel voldoende was om effect te hebben. In hoofdstuk 4 is beschreven dat deze behandeling van stimulusdieren invloed heeft op het keuzegedrag van een mannelijke rat. In een ander experiment in de kruiskooi, waarin dezelfde behandeling aan geovariectomeerde loopdieren werd gegeven, werd ook geen effect op de locomotore activiteit gevonden, terwijl deze behandelde vrouwelijke loopdieren in de nacht na progesteron toediening wel langer in een eindkooitje verbleven waarboven zeven dagen tevoren

een mannetje was gehuisvest (zie figuur 9-1; Friedman: K=290, $p<0,01$). Toch staat deze vondst -het niet toenemen van locomotore activiteit gedurende de bronst- niet op zichzelf. Zo vonden Barnett en McEwan [1973] bij muizen, bij langdurig verblijf in een kruiskooi, ook geen effect van de ovariële cyclus op locomotore activiteit,

Er zijn twee verschillen tussen het experiment van Schenck, van der Giessen, Slob en van der Werff ten Bosch [1978] en experiment 1 uit dit hoofdstuk: het verschil in de vrouwelijke loopdieren en de afwezigheid van de stimulusdieren in het experiment van Schenck et al. Bij de intacte vrouwelijke ratten, die Schenck et al gebruikten, werden dagelijks een vaginaal uitstrijkje gemaakt en werd dagelijks het gewicht bepaald. In experiment 1 uit dit hoofdstuk werden de loopdieren slechts tweemaal uit de kruiskooi gehaald voor de subcutane injecties met respectievelijk oestradiolbenzoaat en progesteron. Russell [1977] heeft er op gewezen dat het effect van de bronst op de loopactiviteit het hoogst is aan het begin van een test, wanneer het vrouwtje nog niet aan haar nieuwe omgeving gewend is. Cowan [1977] heeft laten zien dat slechts een kleine verandering in de kruiskooi er toe leidt dat ratten de gehele kruiskooi weer opnieuw gaan onderzoeken. In experiment 1 hebben de loopdieren hun kruiskooi waarschijnlijk niet als nieuw ervaren, mogelijk ook door de aanwezigheid van stimulusdieren, waardoor er geen effect van bronst op locomotore activiteit is gevonden.

In experiment 2 is gevonden dat testosteron toediening aan geovariectomeerde vrouwelijke ratten ertoe leidt dat zij belangstelling vertonen voor een vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst. Deze gegevens komen overeen met wat op grond van de literatuur over beklimgedrag bij vrouwelijke ratten verwacht zou worden: immers testosteron toediening aan geovariectomeerde vrouwtjes geeft een toename in de beklimfrequentie [Södersten

1972; Slob & van der Schoot 1982; van de Poll, van der Zwan, Oyen & Pater 1982; Richmond & Sachs 1984]. De resultaten van experiment 2 zijn niet geheel in overeenstemming met literatuur gegevens over hormonale beïnvloeding van de voorkeur bij vrouwelijke ratten in andere keuzesituaties en andere testopstellingen. De literatuur gegevens die besproken gaan worden zijn samengevat in tabel 8-3. Meyerson, Lindström, Nordström en Ågmo [1973] onderzochten in een kortdurende test de voorkeur van vrouwelijke ratten in een vrije veld situatie, waarbij de te onderzoeken dieren in de nabijheid van een geovariectomeerde vrouwelijke soortgenoot of een intact mannetje konden zitten. Het gebied tussen beide "voorkeursvakken" werd als neutraal gebied beschouwd. Een eenmalige toediening van 1 mg per kg lichaamsgewicht testosteronpropionaat aan geovariectomeerde looppieren leidde ertoe dat de verblijfsduur in de buurt van het intacte mannetje gedurende vier dagen na de injectie geleidelijk aan toenam om vervolgens weer geleidelijk aan af te nemen. Het effect van de testosteronpropionaat toediening op de verblijfsduur in de buurt van het niet-bronstige vrouwtje was minder duidelijk. Er was sprake van een geringe daling in verblijfsduur bij dit niet-bronstige vrouwtje tot de vierde dag. Daarna keerde de verblijfsduur geleidelijk terug tot het niveau van voor de testosteronpropionaat toediening. Ook in een Y-vormig doolhof vertoonden met testosteronpropionaat behandelde geovariectomeerde vrouwelijke ratten een voorkeur voor een intact mannetje boven een geovariectomeerd vrouwtje [Meyerson, Lindström, Nordström & Ågmo 1973].

In andere experimenten onderzochten Meyerson, Eliasson en Hetta [1979] geovariectomeerde vrouwtjes die in de neonatale periode met testosteronpropionaat behandeld waren. Ook nu werd er getest in een vrije veld situatie, waarbij het looppier aan een zijde het gezelschap kon kiezen van een bronstig vrouwtje en aan de andere zijde in de buurt van een intact mannetje kon toeven,

zonder dat lichamelijk contact met deze stimulusdieren mogelijk was. Wanneer de controle groep geovariectomeerde vrouwtjes en de neonataal behandelde geovariectomeerde vrouwtjes in volwassenheid met olie werd behandeld dan toonde geen van beide groepen een voorkeur voor een van beide stimulusdieren. Kregen beide groepen echter eenmalig oestradiolbenzooat (25 µg/kg) of testosteronpropionaat (1 mg/kg) op volwassen leeftijd, dan vertoonden de neonataal met testosteron behandelde vrouwtjes een voorkeur voor het bronstige vrouwtje terwijl de vrouwtjes, die in de neonatale periode geen behandeling hadden ondergaan een voorkeur vertoonden voor het intacte mannetje.

Tabel 8-3.
Verblijfsduur van vrouwelijke ratten bij een mannetje of een vrouwtje in een vrije veld situatie: een literatuuroverzicht.

Hormoonbehandeling op volwassen leeftijd		Neonataal 1x testosteron		
		Olie*	TP*	E ₂ *
Seksueel onervaren	im>bv 2,3,4	im>>nv 1	im>>bv 2,3,4	im>>bv 2
Seksueel ervaren	im<<bv 3,4	im<<bv 3,4		

*=eenmalige hormoontoediening; im=intact mannetje; bv=bronstig vrouwtje; nv=niet-bronstig vrouwtje.

1. Meyerson, Lindström, Nordström & Ågmo. 1973.

2. Meyerson, Eliasson & Hetta. 1979.

3. de Jonge & van de Poll, 1984.

4. de Jonge, Burger, van Maaren. Overdijk & van de Poll, 1986.

Ook De Jonge en van de Poll [1984] vonden bij geovariectomeerde vrouwtjes die op volwassen leeftijd met testosteron behandeld werden een voorkeur om in de nabijheid van een intacte mannelijke rat te verblijven. Deze onderzoeksgroep heeft ook het effect van copulatie-ervaring op de voorkeur onderzocht, waarbij zij van nagenoeg dezelfde opstelling gebruik heeft gemaakt als de groep van Meyerson [de Jonge & van de Poll

1984; de Jonge, Burger, van Haaren, Overdijk & van de Poll 1986]. Geovariectomeerde ratten werden acht maal samengebracht met een brónstige vrouwelijke rat. Vervolgens werd bij deze groep "ervaren" vrouwelijke ratten en bij een controle groep seksueel onervaren geovariectomeerde vrouwtjes de voorkeur getest. Voor de eerste test werden beide groepen eenmalig met olie behandeld; voor de tweede test kregen beide groepen een eenmalige injectie met 500 μ g testosteronpropionaat. Ervaren vrouwelijke ratten bleken een voorkeur te hebben om in de nabijheid van een brónstige vrouwelijke soortgenoot te gaan zitten; de eenmalige testosteronpropionaat toediening had geen effect op dit gedrag. De seksueel onervaren dieren brachten na de olie behandeling evenveel tijd door in de nabijheid van het intacte mannetje als in de nabijheid van het brónstige vrouwtje. Na de testosteron toediening hadden deze seksueel onervaren vrouwtjes meer belangstelling voor het mannetje dan voor het brónstige vrouwtje.

Ook in ons eigen laboratorium zijn onderzoeken gedaan met een vergelijkbare vrije veld opstelling, waarbij de keuze situatie bestond uit een brónstig vrouwtje versus een intact mannetje. Seksueel onervaren vrouwelijke ratten die lang met testosteronpropionaat werden behandeld, lieten een voorkeur zien voor een intact mannetje; een eenmalige paringstest (waarbij het met testosteron behandelde vrouwtje samengebracht werd met een intact mannetje!) bracht hierin een enorme verandering: de voorkeur voor het mannetje was verdwenen, maar van een voorkeur voor een brónstig vrouwtje was (nog) geen sprake [Brand & van Os 1982].

Deze literatuur gegevens nu lijken niet geheel in overeenstemming met de resultaten uit experiment 2, waarin seksueel onervaren vrouwtjes die chronisch met testosteron werden behandeld een voorkeur toonden voor een brónstig vrouwtje. Wellicht kan het grote verschil verschil in keuze- en in

test-situatie tussen de experimenten uit dit proefschrift en die van de bovengenoemde auteurs een verklaring vormen.

De door de Jonge et al en Meyerson et al geobserveerde voorkeur van seksueel onervaren met testosteronpropionaat behandelde ratten kan ook gezocht worden in een ander effect van testosteron. Toediening van dit hormoon aan ratten leidt tot een toename in de tijd die zij spenderen aan het onderzoeken van een nieuwe situatie of een onbekende soortgenoot [Thor 1980; Thor, Wainwright & Holloway 1982]. De voorkeur die een seksueel onervaren met testosteron behandelde vrouwelijke rat vertoont voor een mannelijke soortgenoot kan op dit effect berusten: een intacte mannelijke soortgenoot is voor haar een onbekende. Een experiment in de kruiskooi, waarbij een intact mannetje en een vrouwtje zouden dienen als stimulusdieren, zou hier uitsluitsel over kunnen geven.

Ook is het mogelijk dat de "seksueel onervaren" vrouwtjes in experiment 2 wel ooit beklimervaring hebben opgedaan. Zij kunnen gedurende de maand voor aanvang van de registratie -toen zij gezamenlijk met andere vrouwtjes die een testosteron implantaat hadden in een kooi doorbrachten- beklimmingen hebben vertoond. Wel is het effect van deze "seksuele" ervaring anders dan het effect van de "seksuele" ervaring in de experimenten van de Jonge et al: in haar experimenten vertoonden de vrouwtjes ook zonder testosteron toediening een voorkeur voor een bronstig vrouwtje (bij een keuze tussen een bronstig vrouwtje en een intact mannetje), terwijl in experiment 2 de voorkeur voor een bronstig vrouwtje verdween wanneer het testosteron implantaat werd verwijderd.

De resultaten uit experiment 3 tonen aan dat geovariectomeerde ratten die alleen met dihydrotestosteron behandeld werden weinig tot geen belangstelling hebben voor vrouwelijke soortgenoten. Dit zelfde gedrag is eerder waargenomen bij neonataal gecastreerde ratten, die op volwassen

leeftijd een dihydrotestosteron implantaat kregen (zie hoofdstuk 7). Oestradiol toediening aan de met dihydrotestosteron behandelde vrouwtjes resulteerde in een toename in de verblijfsduur bij soortgenoten. Wanneer een stimulusdier in bronst was brachten deze met oestradiol en dihydrotestosteron behandelde vrouwtjes er meer tijd door dan gedurende andere nachten. Deze toename in belangstelling voor een bronstig vrouwtje is ook waargenomen bij intacte mannetjes (hoofdstuk 4) en bij vrouwtjes die met testosteron werden behandeld (experiment 2).

De met oestradiol behandelde vrouwtjes hadden weliswaar meer belangstelling voor de stimulusvrouwtjes dan de met dihydrotestosteron behandelde looppieren, maar ook zij vertoonden geen speciale belangstelling voor het bronstige stimulusvrouwtje. Dit is in tegenstelling tot de resultaten die verkregen zijn bij neonataal of op volwassen leeftijd gecastreerde mannetjes, die op volwassen leeftijd met oestradiol werden behandeld (hoofdstuk 6 en 7). Deze mannetjes vertoonden wel een voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot. Toediening van dihydrotestosteron aan vrouwelijke ratten die met oestradiol behandeld werden resulteerde wel in een voorkeur voor een bronstig stimulusvrouwtje. Eenzelfde oestradiol implantaat heeft bij (neonataal) gecastreerde mannetjes een ander effect op het keuzegedrag dan bij geovariectomeerde vrouwelijke dieren: het effect van oestradiol toediening op volwassen leeftijd op het keuzegedrag van ratten lijkt seks-dimorf: (neonataal) gecastreerde mannetjes vertonen wel een voorkeur voor een bronstig stimulusdier, terwijl geovariectomeerde vrouwtjes geen voorkeur vertonen. De resultaten van experiment 3 lijken overigens op de resultaten die Baum en Vreeburg [1973] vonden bij de beïnvloeding van copulatiegedrag bij ratten: een lage dosis oestradiol tezamen met een lage dosis dihydrotestosteron kunnen de gevolgen van castratie op het copulatiegedrag geheel teniet

doen. Een hoge dosis oestradiol kan het effect van castratie gedeeltelijk (i.c. het beklingedrag) doen verdwijnen [Södersten 1973; Södersten, Hansen, Eneroth, Wilson & Gustafsson 1980]. Toediening van alleen dihydrotestosteron aan gecastreerde mannelijke ratten heeft veel minder duidelijke effecten op seksueel gedrag [Yahr 1979]. Een verklaring hiervoor kan zijn dat oestradiol en dihydrotestosteron synergistisch werken op het centraal zenuwstelsel bij de activering van copulatiegedrag [Baum, Södersten & Vreeburg 1974].

Verder onderzoek zal moeten leren waarom bij een nagenoeg gelijke serumconcentratie oestradiol (neonataal) gecastreerde mannetjes wel en geovariectomeerde vrouwelijke ratten geen voorkeur hebben om in de nabijheid van een vrouwelijke soortgenoot te verblijven. Mogelijk is er een verschil in farmacokinetiek van oestradiol bij mannelijke en vrouwelijke ratten, waardoor bij deze laatste bij eenzelfde serumconcentratie oestradiol er minder beschikbaar is in het doelwit orgaan (bijvoorbeeld het centraal zenuwstelsel). Als mogelijkheid dient ook onderzocht te worden in hoeverre eventuele gedragsverschillen tussen gecastreerde mannetjes en geovariectomeerde vrouwtjes die met oestradiol behandeld worden, van invloed kunnen zijn op het gedrag van het stimulusdier, dat door haar gedrag weer de keuze van het looppier beïnvloedt.

Uit bovenstaande experimenten kan geconcludeerd worden dat ook bij geovariectomeerde ratten vooral de actuele hormonale conditie op volwassen leeftijd bepalend is voor het optreden van een voorkeur voor een bronstige vrouwelijke soortgenoot in de gebruikte testsituatie. Er zijn geen aanwijzingen dat deze voorkeur in de neonatale periode "georganiseerd" wordt onder invloed van testiculaire hormonen. Over een eventuele prenatale organisatie van deze voorkeur door de aanwezige androgenen geven deze experimenten geen uitsluitsel. Experimenten met prenatale toediening van anti-androgenen kan een antwoord geven op de vraag

of deze voorkeur, evenals beklingedrag [Goy & McEwen 1980; Slob & Vreeburg 1985] wordt georganiseerd onder invloed van de dan aanwezige androgenen.

SAMENVATTING

In dit hoofdstuk is bij geovariectomeerde ratten het effect van verschillende hormonen onderzocht op de voorkeur voor een bronstige soortgenoot. Wanneer het loopdier kunstmatig in bronst werd gebracht vertoonde zij geen extra belangstelling voor een andere bronstige vrouwelijke soortgenoot. Testosteron toediening (via een siliconen rubber implantaat) aan een geovariectomeerde rat leidde er toe dat deze gedurende de nacht van bronst van een stimulusdier langer bij haar verbleef dan op andere nachten. Dit gedrag stemt overeen met soortgelijke observaties bij intacte mannelijke ratten. Verwijdering van het testosteron bevattende implantaat resulteerde in het verdwijnen van deze speciale belangstelling voor de bronstige soortgenoot.

Wanneer oestradiol en dihydrotestosteron tegelijkertijd werden toegediend dan was haar gedrag in de kruiskooi te vergelijken met dat van een intact mannetje: zij vertoonde dan een voorkeur voor het bronstige stimulusvrouwtje. Geovariectomeerde ratten, die alleen dihydrotestosteron kregen toegediend toonden nauwelijks interesse in soortgenoten. Geovariectomeerde vrouwtjes met een oestradiol implantaat hadden wel belangstelling voor de stimulusdieren, maar geen extra belangstelling wanneer een van de stimulusdieren in bronst was. Dit laatste is in tegenstelling tot (neonataal) gecastreerde mannetjes die met oestradiol behandeld werden, welke dieren dan wel een voorkeur voor een bronstig vrouwtje vertonen.

Geconcludeerd wordt dat geovariectomeerde vrouwtjes in de kruiskooi een voorkeur vertonen voor een bronstig

stimulusvrouwkje, indien de geovariectomeerde vrouwtjes behandeld worden met testosteron of met oestradiol en dihydrotestosteron tezamen.

HOOFDSTUK 9

SIGNALEN DIE DE AANTREKKELIJKHEID VAN DE VROUWELIJKE RAT BEPALEN: LITERATUURGEGEVENS

INLEIDING

In de voorgaande hoofdstukken heeft de nadruk gelegen op effecten van hormonale manipulatie van het loopdier of van het stimulusdier op het keuzegedrag van het loopdier. In dit en het volgende hoofdstuk wordt ingegaan op signalen die een bronstige vrouwelijke rat uitzendt om een mannelijk loopdier te lokken. De centrale vraag is: wat bepaalt de aantrekkelijkheid van een bronstig vrouwtje?

Omdat in de kruiskooi lichamelijk contact tussen een stimulusvrouwtje en het mannetje nagenoeg is uitgesloten -de dieren zijn van elkaar gescheiden door de gazen bodem van het stimuluskooitje- kan de mannelijke rat gebruik maken van gezicht-, geluid- of geursignalen (of een combinatie hiervan) om het bronstige vrouwtje te herkennen. Aan de hand van literatuurgegevens zullen in dit hoofdstuk de mogelijke visuele en auditieve signalen kort besproken worden. Geursignalen zullen uitgebreider besproken worden omdat geur vermoedelijk een belangrijke rol speelt in de *communicatie* tussen ratten. Bovendien is bekend dat geurstoffen een *regulerende* rol spelen bij voortplantingsfuncties van een aantal diersoorten, waaronder de rat. In hoofdstuk 10 zullen vijf experimenten beschreven worden waarin onderzocht is in welke mate geursignalen de aantrekkelijkheid van een bronstige vrouwelijke rat bepalen. Tevens is onderzocht of het mogelijk was de produktieplaats van

deze geurstoffen te lokaliseren.

VISUELE SIGNALEN

Een vrouwelijke rat vertoont gedurende haar ovariële cyclus geen voor het menselijk oog opvallende veranderingen in uiterlijke *lichamelijke kenmerken*. Dit is wel beschreven bij sommige andere diersoorten: bijvoorbeeld de perineale zwellingen bij sommige aapsoorten [Beach 1976]. Echter, tijdens de bronst vertoont de vrouwelijke rat wel *gedragingen* die zij op andere dagen van de bronstcyclus niet vertoont. Zo wordt alleen tijdens de bronst het snelle trillen van de oortjes waargenomen (zie hoofdstuk 2). Het zijn deze gedragingen van het bronstige vrouwtje die voor een deel haar aantrekkelijkheid voor het mannetje bepalen [Hlíňák & Madlafousek 1971; Madlafousek, Hlíňák & Beran 1976; Thor & Flannelly 1978; Hlíňák, Madlafousek & Mohapelová 1979; Perkins, Perkins & Hitt 1980; McClintock, Anisko & Adler 1982]. In experiment 1 van hoofdstuk 10 zal onderzocht worden of een mannelijke rat een voorkeur heeft om in de nabijheid van een bronstig vrouwtje te zitten dat deze gedragingen niet kan vertonen omdat ze in narcose is gebracht.

AUDITIEVE SIGNALEN

Mannelijke en vrouwelijk ratten produceren in tal van situaties ultrasonore vocalisaties, die met behulp van speciale apparatuur voor het menselijk oor hoorbaar gemaakt kunnen worden. De frequentie van deze vocalisaties ligt meestal tussen de 50 en 100 kHz [zie voor een overzicht: Sales & Pye 1974; Floody 1981]. In een aantal situaties produceren ratten 22 kHz

vocalisaties [Sewell 1970]. Barfield en Geyer [1972] vonden dat de mannelijke rat na een ejaculatie in de zogenaamde absolute refractaire periode 1 tot 3 seconden durende vocalisaties van 22 kHz produceerde. Gedurende deze zogeheten "post-ejaculatory song" van het mannetje vertoonde het vrouwtje geen zogenaamde proceptieve gedragingen (zie hoofdstuk 2). Ook voorafgaande aan een ejaculatie produceert een mannelijke rat naast 50 kHz vocalisaties ook 22 kHz vocalisaties, vooral voor en tijdens het beklimmen. Het produceren van deze 50 en 22 kHz vocalisaties door het mannetje is zowel afhankelijk van de hormonale status van het mannetje zelf, als van de hormonale status van het vrouwtje. Zo leidt castratie van het mannetje tot een afname in het aantal 50 kHz pre-ejaculatoire vocalisaties, terwijl er ook een afname is waar te nemen in het aantal 22 kHz vocalisaties gedurende de post-ejaculatoire song, bij die mannetjes die na castratie nog wel ejaculeren [Parrot 1976]. Een intact mannetje produceert meer pre-ejaculatoire 22 kHz en 50 kHz vocalisaties in aanwezigheid van een met oestradiolbenzoaat behandeld geovariectomeerd vrouwtje dan in aanwezigheid van een onbehandeld geovariectomeerd vrouwtje. In aanwezigheid van een met oestradiolbenzoaat en progesteron behandeld vrouwtje produceert het mannetje nog meer 22 en 50 kHz vocalisaties [Geyer & Barfield 1978].

Naast deze stimulerende werking van bronstige vrouwtjes op de vocalisaties door het mannetje, worden deze bronstige vrouwtjes op hun beurt weer gestimuleerd door de vocalisaties van het mannetje. Bronstige vrouwelijke ratten vertonen meer proceptief gedrag naar een mannetje dat ultrasonore vocalisaties produceert dan naar een mannetje dat stom is gemaakt door doorsnijding van de nervus recurrens [Thomas, Talalas & Barfield 1981; Thomas, Howard & Barfield 1982]. Vooral de 22 kHz vocalisaties hebben een stimulerend effect op proceptieve gedragingen van het bronstige vrouwtje [Geyer, McIntosh & Barfield 1978; McIntosh,

Barfield & Geyer 1978].

Of de vocalisaties die een bronstige vrouwelijke rat voor de ejaculatie produceert, het gedrag van het mannetje beïnvloeden is niet bekend. Bij een andere diersoort, de hamster, is aangetoond dat de ultrasonore vocalisaties van een bronstige vrouwtje haar aantrekkelijkheid voor een mannetje mede bepalen [Floody 1981].

In de experimenten in hoofdstuk 10 is geen onderzoek verricht naar ultrasonore vocalisaties.

OLFACTORISCHE SIGNALLEN

Inleiding

Geurstoffen spelen in het dierenrijk een belangrijke rol in de communicatie tussen dieren [zie voor een overzicht: Cheal & Sprott 1971]. In 1894 schrijft Steinach al: "Die Bedeutung des Geruchsinnes im Geschlechtsleben ist anerkannt. Bei den Ratten tritt dieselbe besonders scharf zu Tage.." (p 321). Hoewel geur moeilijker te lokaliseren is dan geluid of visuele signalen, hebben geurstoffen het voordeel dat ze een langere tijd aanwezig blijven. Ontvanger en zender van de signalen hoeven ook niet in elkaars directe nabijheid te zijn [Marler 1967]. De communicatie tussen insecten door middel van geurstoffen is uitvoerig onderzocht. De term *feromoon* is ook afkomstig uit de entomologie [Karlson & Butenandt 1959]. Feromonen zijn stoffen die door het ene dier worden verspreid en in het ontvangende dier een specifieke fysiologische of gedragsverandering teweeg kunnen brengen [Cowley & Wise 1970; Whitten & Champlin 1973; Bronson 1974]. Op grond van het effect worden *seinende* ("signaling") en *gangmakende* ("priming") feromonen onderscheiden. Gangmakende feromonen zetten een neuroendocrien proces in werking, terwijl seinende feromonen een meer directe verandering van het gedrag

tot gevolg hebben. In de oudere literatuur wordt voor deze laatste categorie feromonen de term losmakend ("releasing") gebruikt. Effecten van feromonen zijn modificeerbaar; ze zijn afhankelijk van de voorgeschiedenis, de leeftijd en de hormonale status van het ontvangende dier. Om deze modificeerbaarheid duidelijk te doen uitkomen en te benadrukken dat het uitsluitend gaat om informatieoverdracht (seinen), zonder dat de respons noodzakelijkerwijs hoeft op te treden stelt Bronson [1974] voor om de term "losmakend" niet meer te gebruiken maar alleen de term "seinend". Naast deze 2 typen feromonen onderscheidt Bruce [1970] nog een derde type: de zogenaamde *inprentende* ("imprinting") feromonen. Blootstelling aan deze feromonen gedurende een kritische periode van de ontwikkeling van een individu, veroorzaakt een blijvende verandering in gedrag in volwassenheid.

Gangmakende feromonen

Deze groep feromonen is vooral onderzocht bij vrouwelijke dieren, met name bij muizen, waarbij aannemelijk is gemaakt dat feromonen afkomstig van een andere soortgenoot effecten kunnen hebben op de ovariële cyclus, op het verloop van de zwangerschap en op het tijdstip van de puberteit.

Effect van een mannetje op de ovariële cyclus

Een eerste aanwijzing voor het bestaan van feromonale beïnvloeding van de cyclus werd door Whitten [1956; 1958] gevonden bij muizen. Hij plaatste een aantal vrouwelijke muizen bij een mannelijke soortgenoot. Er trad een verkorting en synchronisatie van de ovariële cycli van de vrouwtjes op, het zogenaamde Whitten-effect. Ook bij andere diersoorten zijn soortgelijke invloeden van mannetjes op de ovariële cycli van

vrouwtjes vastgesteld (bv. bij schapen [Schinckel 1954]). Bij ratten is dit fenomeen ook beschreven. Purvis, Cooper en Haynes [1971] toonden aan dat in aanwezigheid van een mannelijke rat bij vrouwtjes, die als gevolg van ondervoeding verlengde ovariële cycli hadden, deze cycli weer korter werden. Omdat in hun experimenten de mannetjes en vrouwtjes door gaas van elkaar gescheiden waren kunnen naast olfactorische prikkels ook auditieve prikkels voor dit verschijnsel verantwoordelijk zijn geweest. Aron [1979] besprenkelde tweemaal per dag het zaagsel in de kooitjes waarin één vrouwelijke rat verbleef met urine van intacte mannelijke ratten. Hij constateerde dat bij 50 procent van de vrouwtjes de vijfdaagse cyclus werd teruggebracht tot een vierdaagse cyclus. In een controle groep werd de ovariële cyclus slechts bij 5 procent van de vrouwtjes met een dag verkort. Om zeker te zijn dat deze verkorting van de cyclus werd veroorzaakt door geurstoffen in de urine van de mannetjes en niet werd veroorzaakt door het opeten van het zaagsel door vrouwelijke dieren, herhaalde Aron [1979] deze experimenten, met als verschil dat de vrouwtjes op een gazen rooster boven het zaagsel werden geplaatst. Ook in die experimenten trad er bij ongeveer 50 procent van de vrouwelijke dieren een verkorting van de cyclus op.

Effect van een vrouwtje op de ovariële cyclus van een ander vrouwtje

In 1955 beschreven van der Lee en Boot dat er bij vrouwelijke muizen die in groepen van vier waren gehuisvest een toename was in het aantal schijnzwangerschappen (het zogeheten van der Lee-Boot-effect). Bij individueel gehuisveste muizen was de cyclus regelmatig en traden er geen schijnzwangerschappen op. Later werd aannemelijk gemaakt dat het optreden van schijnzwangerschappen veroorzaakt werd door feromonen [van der Lee & Boot 1956; Champlin 1971]. Afhankelijk van de grootte van

de groep vrouwelijke muizen kan er een verlenging van de cyclus, een toename van het aantal schijnzwangerschappen of een periode van langdurige anoestrus optreden [Whitten & Champlin 1973].

Bij vrouwelijke ratten is het effect van groepshuisvesting minder duidelijk dan bij muizen. Bij vrouwelijk ratten is vastgesteld dat blootstelling aan (de urine van) andere vrouwelijke ratten tot een *verkorting* van de cyclus kan leiden [Aron 1979].

Het is niet geheel duidelijk welke hormonale mechanismen aan het Whitten-effect en het van der Lee-Boot-effect ten grondslag liggen. Veel aandacht is gegeven aan de beïnvloeding van de LH en FSH secretie door de feromonen [Bronson 1976]. Echter, Milligan [1980] toonde aan dat het van der Lee-Boot-effect bij muizen door bromocriptine toediening verdween. Deze resultaten wijzen er op dat feromonen mogelijk via beïnvloeding van de prolactine secretie effecten hebben op de ovariële cyclus.

Effect van een mannetje op het verloop van de zwangerschap

In 1959 verscheen er een artikel van de hand van Hilda Bruce, waarin zij feromonale beïnvloeding van de zwangerschap van de muis beschreef (het naar haar genoemde Bruce-effect). Een dag na de conceptie plaatste zij bij een bevruchte vrouwelijke muis een ander mannetje (dat haar niet bevrucht had). Vier dagen later werd dit vrouwtje opnieuw bronstig waaruit bleek dat de zwangerschap geen doorgang had gevonden. Plaatste ze echter hetzelfde mannetje een dag na de conceptie bij het door hem gedekte vrouwtje dan vond de zwangerschap gewoon doorgang. De eerste vier dagen na de conceptie blijkt een vrouwelijke muis gevoelig te zijn voor de invloed van een vreemd mannetje. In latere experimenten is aangetoond dat het hier inderdaad om beïnvloeding door feromonale stoffen gaat [Parkes & Bruce, 1961]. Dit zogenaamde Bruce-effect blijft beperkt tot de preimplantatie-periode (bij de muis vindt ongeveer 100 uur na de bevruchting de implantatie plaats [van Marle 1983]). Het

zwangerschap blokkerende effect berust op een gestoorde implantatie, hetgeen veroorzaakt wordt door een dysfunctionerend corpus luteum [Parkes & Bruce 1961; Milligan 1980]. Hoewel de onderliggende endocriene oorzaak van het dysfunctioneren van het corpus luteum niet geheel begrepen wordt, lijkt een daling van het prolactine gehalte een rol te spelen [Bellringer, Pratt & Keverne 1980; Milligan 1980]. Toediening van prolactine aan vrouwelijke muizen voorkomt het zwangerschap blokkerende effect van een vreemd mannetje [Parkes & Bruce 1961]. Dit Bruce-effect is tot nog toe alleen bij muizen beschreven.

Effect van een mannetje op de puberteit bij een vrouwtje

Kling [1964] en Orbach en Kling [1966] maakten prepuberale ratten anosmisch door de tractus olfactorius beiderzijds te laederen. Zij vonden dat bij deze vrouwelijke ratten de vagina later open ging dan bij vrouwelijke ratten die geen laesie in de tractus olfactorius hadden. Het opengaan van de vagina en de eerste ovulatie vallen bij ratten nagenoeg samen [Meys-Roelofs, Uilenbroek, de Greef, de Jong & Kramer 1975; Slob, van Es & van der Werff ten Bosch 1985]. Deze door Kling en Orbach geobserveerde puberteitsvertraging hoeft niet een direct gevolg te zijn van het ontbreken van olfactorische input. Het kan ook een effect zijn van de laesie in de tractus olfactorius, een onderdeel van het telencefalon. Vandenbergh [1976] beschreef een experiment waarin hij vanaf het spenen vrouwelijke ratten alleen, samen met een mannetje, samen met andere vrouwtjes, of samen met andere vrouwtjes en een mannetje huisvestte. Zowel het tijdstip waarop de vagina open ging als het tijdstip waarop de eerste vaginale oestrus plaats vond, werden bepaald. Dit laatste tijdstip werd bepaald aan de hand van de cytologie van vaginale epitheelcellen die door vaginale lavage werden verkregen. Bij sommige vrouwtjes was deze techniek niet mogelijk door de aanwezigheid van een zaadprop. Bij deze (zwangere) vrouwtjes

werd het tijdstip van eerste bronst bepaald door vanaf de dag van bevalling 21 dagen terug te rekenen. Noch de aanwezigheid van een mannetje noch de aanwezigheid van vrouwtjes had invloed op de leeftijd waarop de vagina open ging. Wel stelde deze auteur bij vrouwtjes die in aanwezigheid van een mannetje opgroeiden eerder een vaginale oestrus (als teken van ovulatie) vast, dan bij vrouwtjes die alleen opgroeiden. Slob, van Es en van der Werff ten Bosch [1985] vonden echter geen effect van de aanwezigheid van mannelijke ratten op het tijdstip van vaginale bronst. Dit tijdstip viel bij hen nagenoeg samen met het opengaan van de vagina. Door histologisch onderzoek van de ovaria toonden zij aan dat het tijdstip van eerste vaginale bronst inderdaad het tijdstip van eerste ovulatie was.

Bij muizen is wel een puberteitsversnellend effect door de aanwezigheid van een mannelijke soortgenoot aangetoond [zie voor een overzicht: Vandenbergh 1983a]. Vandenbergh, Whitsett en Lombardi [1975] hebben dit puberteitsvervroegende feromoon bij muizen gedeeltelijk uit de urine van mannetjes kunnen isoleren. Het zou een eiwit of een aan eiwitgebonden substantie zijn. Hoewel de precieze neuroendocriene processen die aan dit verschijnsel ten grondslag liggen nog niet bekend zijn, lijkt ook hier prolactine een belangrijke rol te spelen [Lomas & Keverne 1982].

Verwijdering van het vomeronasale orgaan -een gespecialiseerd onderdeel van het reukapparaat met een eigen zenuwvoorziening en eigen centrale projecties, dat bij een aantal dieren aanwezig is- heeft tot gevolg dat er bij vrouwelijke muizen geen puberteitsvervroeging optreedt in aanwezigheid van mannetjes [Lomas & Keverne 1982].

De urine van vrouwelijke muizen heeft een vertragend effect op de puberteit bij andere vrouwelijke soortgenoten [voor een overzicht zij verwezen naar: Vandenbergh 1983b]. Het vomeronasale orgaan speelt een belangrijke rol bij de regulatie

van de afscheiding van dit feromoon [Lepri, Wysocki & Vandenberg 1985].

Seinende feromonen

Naast deze gangmakende feromonen, die een neuroendocrien proces in gang zetten, worden seinende feromonen onderscheiden. In het dierenrijk vervullen seinende feromonen een rol in de communicatie tussen dieren onderling.

Bij de rat wordt aangenomen dat tal van gedragingen door seinende feromonen op enigerlei wijze beïnvloed of uitgelokt worden. Een rat zal in een T-vormig doolhof afwisselend de linker- en rechterarm bezoeken. Het is aannemelijk gemaakt dat deze afwisseling voor een belangrijk deel veroorzaakt wordt door geurstoffen die de rat zelf bij een eerdere tocht door het doolhof heeft achtergelaten [Douglass 1966; Cheal & Sprott 1971; Means, Hardy, Gabriël & Uphold 1971]. Ook bij de regulatie van agressie tussen twee mannelijke ratten spelen geurstoffen een belangrijke rol [voor een overzicht zie: Cheal & Sprott 1971].

De bespreking in dit hoofdstuk wordt beperkt tot twee groepen feromonen die in het kader van de voortplanting van de rat een rol spelen: het moederlijke feromoon en de groep feromonen die de aantrekkelijkheid van een rat bepalen: de seksuele lokstoffen.

Moederlijk feromoon

Pasgeboren ratten blijven gedurende de eerste 12 dagen na hun geboorte in het nest. Zij zijn volledig afhankelijk van de moeder, die in deze periode ook het initiatief tot verzorging neemt. Ongeveer twee weken na de geboorte verlaten de jongen het nest en zoeken zij zelf de moeder op om gezoogd te worden. Leon en Moltz [1971] vonden dat ratten die 16 dagen oud zijn

aangetrokken worden tot de geur van een 16 dagen lacterend vrouwtje en niet tot de geur van een niet-lacterend vrouwtje. In latere experimenten is aangetoond dat lacterende ratten dit feromoon alleen tussen de 14-de en 33-ste dag na de bevalling in grote hoeveelheden produceren [Leidahl & Moltz 1975]. De produktie van dit feromoon vindt plaats in het distale gedeelte van het caecum door de daar aanwezige bacteriële flora en wordt met de faeces uitgescheiden. De faeces afkomstig uit dit distale deel van het caecum (de zogeheten caecotrofe) bevat meer water dan faeces afkomstig uit het proximale deel van het caecum. Door niet-lacterende ratten, die een geringe hoeveelheid caecotrofe produceren waarin ook een geringe hoeveelheid moederlijk feromoon aanwezig is, wordt deze caecotrofe opgegeten. Lacterende ratten daarentegen produceren deze caecotrofe in grote hoeveelheden vanaf de 10-de dag na de bevalling [Leon 1974].

Het vermogen van lacterende ratten om moederlijk feromoon in voldoende mate te produceren en uit te scheiden is sterk afhankelijk van het dieet, dat voldoende substraat moet bevatten voor de bacteriën in het caecum [Leon 1974]. Prolactine stimuleert de produktie van deze caecotrofe en het moederlijke feromoon, terwijl inhibitie van prolactine de produktie van het moederlijk feromoon remt [Leon 1974; Leidahl & Moltz 1977].

Hyperfagie is een karakteristiek verschijnsel bij lacterende ratten. Leon [1974] veronderstelde dat deze hyperfagie (en daardoor een toename van caecotrofe) essentieel was voor een verhoogde uitscheiding van moederlijk feromoon. Echter, ook vrouwelijke ratten, die niet zwanger zijn geweest maar wel moederlijk gedrag vertonen, scheiden moederlijk feromoon uit. Aangezien deze vrouwtjes geen hyperfagie vertonen, concludeerden Leidahl en Moltz [1977] dat hyperfagie (en de daardoor ontstane toename van caecotrofe) niet essentieel is voor de feromoonproduktie.

De afname van het aantrekkelijk vinden van dit moederlijk

feromoon door de jongen valt samen met het op gang komen van de eigen caecum functie van de jongen en de produktie van dit feromoon door de jongen zelf. Verwijdering van het caecum bij jonge ratten had tot gevolg dat deze jonge ratten een aantal dagen langer aangetrokken werden door het moederlijk feromoon dan jonge ratten die wel een caecum hadden [Leon & Behse 1977].

Seksuele lokstoffen

Zoals in hoofdstuk 3 is uiteengezet kunnen er bij seksueel gedrag vier fasen onderscheiden worden. In de beginfase (de aantrekkingsfase) zoeken de dieren toenadering tot elkaar: ze worden tot elkaar aangetrokken. De aantrekkelijkheid van een dier (in de context van seksueel gedrag) wordt bepaald door gedragsmatige en niet-gedragsmatige stimuli. Veel onderzoek is verricht naar niet-gedragsmatige geursignalen, de seksuele lokstoffen ("sex attractants"). Onder seksuele lokstoffen worden de geuren verstaan die de aantrekkelijkheid van een dier mede bepalen. Een voorbeeld is de seksuele lokstof die door loopse teven wordt afgescheiden en die reuen aantrekt. Deze lokstof is uit vaginale secreties van loopse teven geïsoleerd. Het is een eenvoudige chemische verbinding: methyl-p-hydroxibenzoaat [Goodwin, Gooding & Regnier 1979].

Bij een aantal primaten is aannemelijk gemaakt dat seksuele lokstoffen een rol kunnen spelen in de communicatie tussen seksuele partners [Michael, Keverne & Bonsall 1971]. Goldfoot, Kravetz, Goy en Freeman [1976], die in hun experimenten bij de resus-aap geen aanwijzingen vonden voor het bestaan van seksuele lokstoffen stellen: "the role that odors may play in sexual behavior of the rhesus is situationally quite specific, since conditions under which such a role can be demonstrated are apparently extremely limited" (p 23). Keverne [1980] zegt over deze lokstoffen, uitgaande van de niet-humane vrouwelijk primate, het volgende: "how this information is used, however, depends

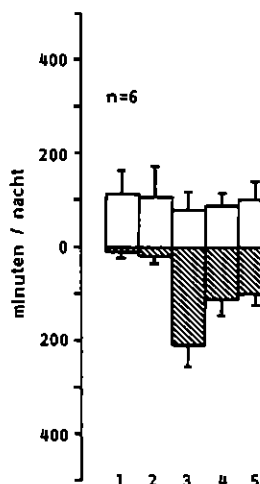
upon the male, presumably his past experiences, and certainly the social context in which it is perceived" (p 326).

Ook bij de mens zou het mogelijk kunnen zijn dat geursignalen een rol spelen bij het bij elkaar brengen van seksuele partners. Directe aanwijzingen zijn niet voorhanden; de vooronderstelling berust vooral op indirecte aanwijzingen. Allereerst de eeuwenoude belangstelling voor parfums met een bepaalde geur, de muskusgeur. Deze muskusgeur wordt gevonden in een aantal seksuele lokstoffen van zoogdieren, waaronder de muskusrat. Ook in de menselijke urine komt een stof met een muskusgeur voor [Comfort 1974]. In de tweede plaats varieert de gevoeligheid voor bepaalde geuren bij vrouwen tijdens hun menstruele cyclus [Le Magnen 1952; Doty, Snyder, Huggins & Lowry 1981]. Ook blijkt er een sekse-verschil te bestaan met betrekking tot de geurdrempel en de waardering van bepaalde geurstoffen, waarbij vrouwen een lagere geurdrempel hebben voor met name de muskusachtige geurstoffen [Griffiths & Patterson 1970; Koelega & Köster 1974]. Comfort [1974] zegt in zijn artikel "The likelihood of human pheromones": "...humans seem to possess a range of organs which we assume to be 'vestigial' or non-functional, but which if we saw them in lower mammals, we should recognize as mediating odor exchange". Hiermee doelt hij onder andere op de oksel met zijn apocriene klieren, de voorhuid waarachter zich smegma kan ophopen en de vaginale afscheiding. Tot nu toe zijn er evenwel geen aanwijzingen voor het bestaan van seksuele lokstoffen bij de mens.

Seksuele lokstoffen bij de rat

Bij ratten is veel onderzoek verricht naar de seksuele lokstoffen geproduceerd door het mannetje. Zo vertonen vrouwelijke ratten een voorkeur voor plaatsen waar intacte mannelijke soortgenoten gezeten hebben [Taylor, Haller & Regan

1982; Taylor, Regan & Haller 1983]. In een "straight runway" (zie hoofdstuk 3) lopen bronstige vrouwtjes sneller naar genarcotiseerde met dihydrotestosteron behandelde gecastreerde mannetjes dan naar onbehandelde genarcotiseerde gecastreerde mannetjes. Genarcotiseerde mannetjes die met oestradiolbenzoaat en dihydrotestosteron waren behandeld, waren voor de bronstige vrouwtjes nog aantrekkelijker, gemeten aan de loopsnelheid [Drewett & Spiteri 1979]. Ook in de kruiskooi vertoonden vrouwelijke ratten in de nacht van kunstmatig geïnduceerde bronst een voorkeur voor het eindkooitje waarboven 7 dagen geleden een intacte mannelijke rat gedurende lange tijd verbleven had (zie figuur 9-1).



Figuur 9-1.
Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur van geovariectomeerde vrouwtjes in eindkooitje B (open kolommen) en eindkooitje D (gearceerde kolommen). Boven eindkooitje D had 7 dagen tevoren een intact mannetje gezeten. Op dag 1 werden de loopdieren met oestradiolbenzoaat en op dag 3 met progesteron behandeld.

Minder onderzoek is verricht naar seksuele lokstoffen die een vrouwelijke rat produceert. Beach [1942a] onderzocht over welke zintuigen een seksueel onervaren mannelijke rat minimaal diende te beschikken om met een bronstig vrouwtje te kunnen copuleren. Hiertoe ontnam hij de te onderzoeken mannetjes een of meerdere zintuigen. De reukzin schakelde hij uit door operatieve

verwijdering van de bulbus olfactorius, terwijl hij de tastzin in de snuit uitschakelde door laedering van de sensorische takken van de nervus trigeminus. Voorts maakte hij een aantal ratten blind. Het gehoor bleef bij alle dieren intact. Op grond van de experimenten in dit vaak geciteerde artikel komt Beach [1942] tot de conclusie dat: "Neither olfaction, vision, nor cutaneous sensitivity in the snout and lips is essential to the appearance of copulatory behavior in the inexperienced male rat".

De groep rond Larsson beschreef effecten van uitschakeling van de reukzin op het paringsgedrag van de mannelijke rat in meer detail. Ze onderzochten mannetjes bij wie de reukzin ontbrak door verwijdering van het reukepitheel, of door verwijdering van het rostrale deel van de bulbus olfactorius, of door doorsnijding van de pedunculus olfactorius. Deze mannetjes zonder reukzin bleken minder vaak te ejaculeren en meer tijd nodig te hebben om tot een ejaculatie te komen dan intacte mannetjes [Heimer & Larsson 1967; Larsson 1971; Wilhelmsson & Larsson 1973]. Thor en Flannelly [1977] maakten mannelijke ratten anosmisch door applicatie van een zinksulfaat oplossing op het reukepitheel (zinksulfaat veroorzaakt een tijdelijke uitschakeling van de reukzin [Alberts & Galef 1971]). Ook zij vonden dat seksueel onervaren mannetjes zonder reukzin onder bepaalde omstandigheden minder frequent ejaculeerden dan mannetjes met een intacte reukzin. Het effect van anosmie was vooral duidelijk indien de bronstige vrouwtjes geen proceptieve gedragingen vertoonden [Thor & Flannelly 1978].

Le Magnen [1952b] onderzocht de fase die voorafgaat aan de paring. Hij vond dat een mannelijke rat in een T-vormig doolhof vaker naar het stimuluskooitje ging waarin een bronstige vrouwelijke rat verbleef dan naar het kooitje waarin een niet-bronstig vrouwtje verbleef. Omdat het mannetje de vrouwtjes niet kon zien -de stimuluskooitjes waren door gaas en houtwol van de korte armen van het T-vormige doolhof gescheiden- concludeerde

hij dat de mannelijke rat op geleide van geurprikkel van het bronstige vrouwtje naar haar toeging. In dit onderzoek waren auditieve prikkels uitgaande van de stimulusvrouwtjes evenwel niet uitgesloten.

Stern [1970] hield wel rekening met mogelijke auditieve prikkels. Hij bracht bronstige vrouwtjes onder narcose. In kortdurende tests in een vrije veld situatie werd gevonden dat seksueel ervaren mannelijke ratten de meeste tijd doorbrachten in de buurt van het kooitje met het bronstige vrouwtje bij een keuze tussen een bronstig en niet-bronstig genarcotiseerd dier. Er werd géén verschil gevonden in verblijfsduur bij een keuze tussen een wakker bronstig vrouwtje en een bronstig vrouwtje onder narcose.

Landauer, Wiese en Carr [1977] onderzochten in een 10 minuten durende test het gedrag van seksueel onervaren mannetjes, die vrijelijk contact konden hebben met twee genarcotiseerde vrouwtjes waarvan er een in bronst was. De mannetjes toonden meer interesse in het bronstige vrouwtje, gemeten naar de tijd die de mannetjes er aan haar besteedden. Echter, werd deze mannetjes de keuze geboden tussen twee kartonnen kokertjes waarin vrouwtjes gezeten hadden, dan was er geen voorkeur voor het kokertje waarin het bronstige vrouwtje gezeten had. Landauer, Wiese en Carr [1977] concludeerden dat geur weliswaar een belangrijke rol speelt, maar dat de mannelijke rat ook zijn smaak- en tastzin gebruikt bij de detectie van een bronstig vrouwtje.

Hetta en Meyerson [1978] gebruikten een vrije veld opstelling waarbij de genarcotiseerde stimulusdieren in kooitjes zaten. Een intact mannetje bracht meer tijd door bij een genarcotiseerd bronstig vrouwtje dan bij een genarcotiseerd mannetje dat in het andere kooitje zat.

HOOFDSTUK 10

GEURSIGNALEN EN DE AANTREKKELIJKHEID VAN VROUWELIJKE RATTEN

INLEIDING

Uit de in het vorige hoofdstuk aangehaalde literatuur blijkt dat voor een mannelijke rat de reukzin belangrijk is voor de herkenning van een bronstige soortgenoot. Ook in de kruiskooi kan de bijdrage van geurprikkels aan het keuzegedrag van de mannelijke rat onderzocht worden. Daarbij kan men manipuleren aan de ontvanger van de signalen (het mannetje) en aan de zender van de signalen (het vrouwtje). Bij manipulatie aan de ontvanger -het mannetje- zou uitschakeling van het reukapparaat een van de mogelijkheden zijn. Uitschakeling van het reukapparaat van de rat heeft effecten op velerlei gedragingen en fysiologische processen [zie voor een overzicht: Alberts 1974; Meisel, Lumia & Sachs 1980]. Bovendien oriënteert het mannetje zich in de kruiskooi waarschijnlijk, evenals in andere situaties, aan de door hemzelf uitgezette geursporen [Douglass 1966; Cheal & Sprott 1971; Means, Hardy, Gabriel & Uphold 1971]. Op grond van deze overwegingen is gekozen voor manipulatie aan het stimulusdier. In experiment 1 worden door narcose van een bronstig vrouwtje alle zintuiglijke stimuli uitgeschakeld behalve geurprikkels. In experimenten 2, 3, 4 en 5 wordt bij het bronstige vrouwtje steeds een mogelijke bron van geurprikkels verwijderd: de preputiaalklieren (experimenten 2 en 3), de vagina (experiment 4) en de bacteriële flora van de vagina (experiment 5).

De preputiaalklieren als bron van seksuele lokstoffen

In 1941 veronderstelden Noble en Collip dat de preputiaalklieren van de vrouwelijke rat een functie vervullen in de produktie van seksuele lokstoffen. Recente onderzoeken bevestigen dat de preputiaalklieren van bronstige vrouwelijke ratten stoffen afscheiden die voor mannelijke ratten aantrekkelijk zijn [Gawienowski, Orsulak, Stacewicz-Sapuntzakis & Pratt 1976; Thody & Dijkstra 1978; Thody, Donohoe & Shuster 1981; Lucas, Donohoe & Thody 1982; Donohoe, Thody & Shuster 1981], terwijl de preputiaalklieren van mannetjes seksuele lokstoffen afscheiden die aantrekkelijk zijn voor vrouwelijke ratten [Gawienowski, Orsulak, Stacewicz-Sapuntzakis & Joseph 1975].

De preputiaalklieren zijn twee grote gespecialiseerde talgklieren die zich zowel macroscopisch als microscopisch onderscheiden van gewone talgklieren, terwijl ook de hormonale beïnvloeding anders verloopt (voor een uitgebreid overzicht zie Beaver [1960], Adams [1980] en Pietras [1981]). De preputiaalklieren die zowel bij mannelijke als vrouwelijke ratten voorkomen liggen subcutaan ter weerszijde van de mediaanlijn, iets boven de symphysis pubis. De twee afvoerbuizen lopen aan de laterale zijden van de penis of clitoris en monden uit naast de meatus urethrae. Androgene stimulatie leidt tot vergroting van de preputiaalklieren [Beaver 1960]. Melanocyten-stimulerend hormoon en oestrogenen veroorzaken een verhoogde afgifte van talg door de klieren [Thody, Cooper, Bowden, Meddis & Shuster 1976; Pietras 1981; Donohoe, Thody & Shuster 1981; Thody, Donohoe & Shuster 1981; Lucas, Donohoe & Thody 1982].

Orsulak en Gawienowski [1972] constateerden dat mannelijke ratten langer hun kop in een tunneltje staken waaruit lucht geblazen werd die langs een homogenaat van preputiaalklieren van bronstige vrouwtjes was geleid, dan in een tunneltje waaruit

lucht geblazen werd afkomstig van een homogenaat van speekselklieren van brontige vrouwtjes. Door verschillende extractietechnieken te gebruiken toonde deze groep onderzoekers aan dat vooral de vluchtige niet-polaire lipide stoffen uit de preputiaalklieren van brontige vrouwtjes aantrekkelijk zijn voor mannelijke soortgenoten [Gawienowski, Orsulak, Stacewicz-Sapuntzakis & Pratt 1976]. In een 5 minuten durende test onderzochten Thody en Dijkstra [1978] de voorkeur van mannelijke ratten voor de geur afkomstig van stimulusdieren. De stimulusdieren werden in kokertjes geplaatst; een luchtstroom blies over de anogenitaal streek van deze stimulusdieren via een tunneltje in de kooi van het te onderzoeken mannetje. Seksueel ervaren mannelijke ratten onderzochten gedurende langere tijd het tunneltje waaruit de geur van een genarcotiseerd brontig vrouwtje (met preputiaalklieren) geblazen werd dan het tunneltje waaruit de geur van een genarcotiseerd brontig vrouwtje zonder preputiaalklieren werd geblazen. In een later experiment vonden Lucas, Donohoe en Thody [1982] dat mannetjes geen onderscheid maakten tussen de geur afkomstig van een dioestrus vrouwtje en de geur afkomstig van een brontig vrouwtje zonder preputiaalklieren. Zij stellen dan ook dat de preputiaalklier de belangrijkste bron van seksuele lokstoffen is [Lucas, Donohoe & Thody 1982].

De vagina als bron van seksuele lokstoffen

Onderdeel van het precopulatoire gedragspatroon bij de rat is de zg. anogenitale inspectie [Timmermans 1978; Dewsbury 1979]. Dit inspectiegedrag door mannetjes is afhankelijk van testosteron [Thor 1978]. Bij hamsters is gevonden dat het mannetje aangetrokken wordt door vaginale afscheiding van vrouwelijke dieren in bronst [O'Connell, Singer, Macrides, Pfaffmann & Agosta

1978; Kwan & Johnston 1980]. Bij de rat is iets dergelijks tot nog toe niet beschreven.

Om te onderzoeken of de vagina van de bronstige vrouwelijke rat geurstoffen afscheidt, wordt in experiment 4 de vagina van geovariectomeerde vrouwtjes chirurgisch gesloten.

De vaginale flora als bron van seksuele lokstoffen

Gedurende de bronstocyclus van de rat vinden er karakteristieke veranderingen plaats in de vagina. Aan de hand van de celmorfologie kan nauwkeurig het stadium van de cyclus van de rat worden bepaald [Long & Evans 1922]. De zuurgraad en de hoeveelheid bacteriën in de vagina zijn aan cyclische veranderingen onderhevig [van der Schoot & Hazenberg 1975; Koiter, Hazenberg & van der Schoot 1977]. Gedurende prooestrus en oestrus is het aantal bacteriën in de vagina van de rat het hoogst [Koiter, Hazenberg & van der Schoot 1977]. Leon [1974] heeft er op gewezen dat bacteriën een belangrijke rol kunnen spelen in het produceren van feromonen. Hij toonde aan dat maternale feromonen worden geproduceerd door de flora in het caecum. Bij de hamster is aannemelijk gemaakt dat de aantrekkelijkheid voor mannetjes van vagina-afscheiding van bronstige vrouwtjes voor een deel bepaald wordt door de vaginale bacteriële flora [Adams 1980]. Op grond van deze literatuur gegevens werd besloten om in experiment 5 de invloed van de vaginale flora op het tot standkomen van het mannelijke keuzegedrag nader te bestuderen.

Experiment 1: Effect van narcose

Opzet

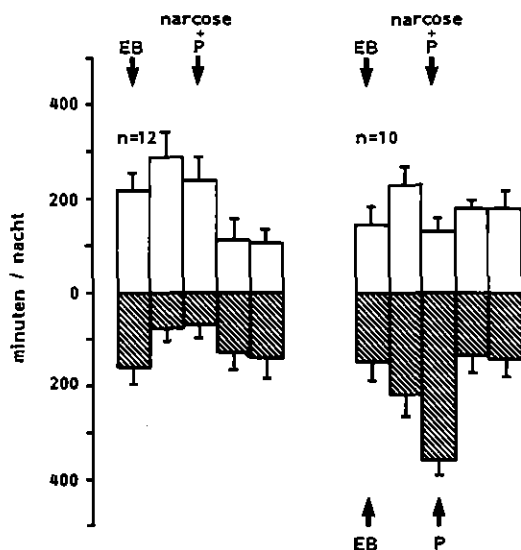
Het experiment bestond uit 2 delen. In het eerste deel werd onderzocht of mannelijke ratten langer bij een genarcotiseerd bronstig vrouwtje verbleven dan bij een "wakker" niet-bronstig vrouwtje (in het vervolg wordt "wakker" gebruikt om een niet-genarcotiseerd vrouwtje aan te duiden). In het tweede deel werd onderzocht of mannelijke ratten een onderscheid maken tussen een wakker en een genarcotiseerd bronstig vrouwtje.

Er werden 12 kruiskooien gebruikt, waarin geovariectomeerde vrouwtjes als stimulusdier aanwezig waren en intacte mannetjes als loofdieren. Bronst werd op de gebruikelijke wijze geïnduceerd door toediening van oestradiolbenzooat en progesteron (zie hoofdstuk 5). In het eerste gedeelte van het experiment werd slechts één stimulusvrouwtje in bronst gebracht terwijl hetzelfde vrouwtje ook onder narcose werd gebracht. In het tweede gedeelte werden beide stimulusvrouwtjes in bronst en één van de twee onder narcose gebracht.

De narcose door middel van een intraperitoneale injectie met fenobarbital (150 mg/kg lichaamsgewicht) werd alleen gegeven op de dag waarop ook de progesteron injectie werd toegediend. Het narcoticum werd een half uur voor het uitgaan van de lichten toegediend, circa 3,5 uur na de progesteron injectie. Fenobarbital is een langwerkend barbituraat met een narcoseduur van meer dan 5 uur [Melby & Altman 1976]. Uit eigen observaties in een oriënterend onderzoek bleek dat de narcoseduur bij deze dosering en deze wijze van toediening ruim 6 uur bedroeg. Gedurende minimaal 6 uur werd er in dat onderzoek bij geen van de vier behandelde vrouwelijke ratten spontane activiteit gezien. De dieren waren hypotoon; wel was er na 2 à 3 uur reactie op sterke pijnprikkels.

Resultaten en korte bespreking

In het linker gedeelte van figuur 10-1 zijn de resultaten van het eerste gedeelte van het experiment weergegeven. Het bleek dat 10 van de 12 mannetjes, ondanks de narcose van het bronstige dier, toch langer bij haar verbleven dan bij het niet-bronstige wakkere dier (rangtekentoets: $V=68$, $p<0,01$). Echter, de piek in verblijfsduur gedurende de nacht van bronst, zoals die gezien wordt bij wakkere stimulusdieren (zie hoofdstuk 5), ontbreekt in dit experiment. De eerste drie dagen van de artificiële cyclus verschillen significant van de laatste twee dagen (Friedman: $K=380$, $p<0,01$).



Figuur 10-1. Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur van mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren. In het linkergedeelte werd één van de twee stimulusdieren tijdens de nacht van bronst onder narcose gebracht. In het rechtergedeelte werden beide stimulusdieren in bronst gebracht en één in de nacht van bronst in narcose. EB=tijdstip van oestradiolbenzoaat-injectie; P=tijdstip van progesteron-injectie.

In het tweede gedeelte van het experiment, waarin beide stimulusdieren in bronst waren en slechts één van hen onder narcose, brachten negen van de tien mannetjes gedurende de nacht van bronst meer tijd door bij het wakkere bronstige dier dan bij het genarcotiseerde bronstige vrouwtje (figuur 10-1 rechtergedeelte; rangtekentoets: $V=51$, $p<0,01$). De gegevens van twee kruiskooien konden niet gebruikt worden.

Gedurende de nachten voor en na de bronst -beide vrouwtjes waren wakker- verbleven de mannetjes even lang bij beide vrouwtjes. De verblijfsduur bij het wakkere bronstige dier was significant verschillend van de verblijfsduur bij haar gedurende de andere nachten van haar cyclus (Friedman: $K=288$, $p<0,05$).

Op grond van het eerste gedeelte van dit experiment kan geconcludeerd worden dat geursignalen belangrijk en voldoende zijn om gedurende de bronst aantrekkelijk te zijn voor een mannetje. Uit het tweede gedeelte blijkt dat ook signalen die actief door het vrouwtje worden uitgezonden een belangrijke rol spelen bij de totstandkoming van het keuzegedrag van het mannetje, hetgeen overeenkomt met de literatuur [Landauer, Wiese & Carr 1977; Hetta & Meyerson 1978; Thody & Dijkstra 1978].

Experiment 2: Effect van verwijdering van de preputiaalklieren; wakkere stimulusdieren

Opzet

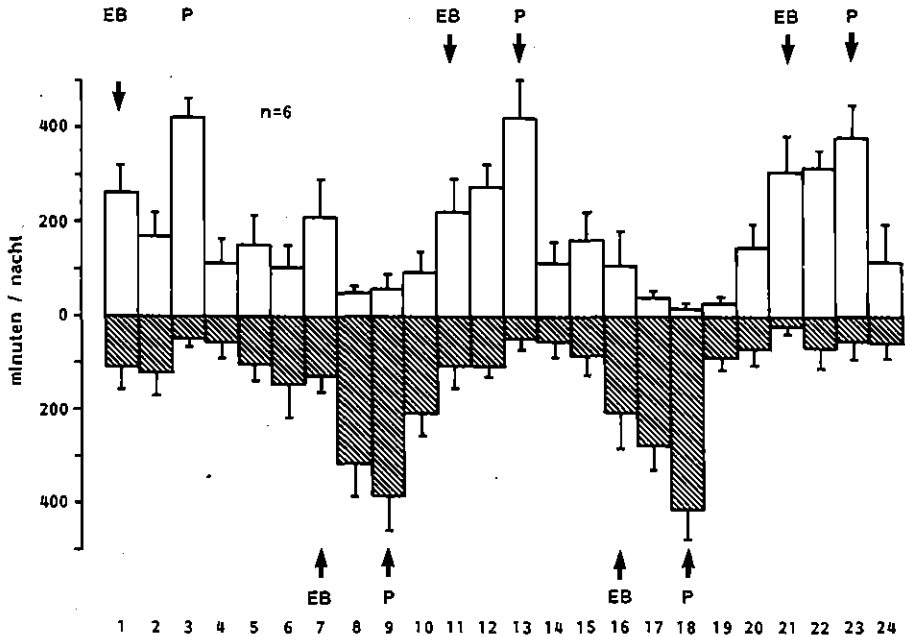
Om te onderzoeken of de preputiaalklieren van een bronstig vrouwtje ook in de kruiskooi een bijdrage leveren aan de totstandkoming van de voorkeur van het mannetje werden bij zes geovariectomeerde dieren de preputiaalklieren verwijderd. Twee weken na deze ingreep werden ze in een van de twee stimuluskooitjes van zes kruiskooien geplaatst terwijl in het andere stimuluskooitje een controle-vrouwtje (een

geovariectomeerd vrouwtje met preputiaalklieren) werd geplaatst. In dit vier weken durende experiment werden de omzwervingen van zes intacte mannetjes gevolgd. De stimulusdieren werden afwisselend in bronst gebracht (hoofdstuk 5). Gedurende de nachten 3, 13 en 23 was het vrouwtje zonder preputiaalklieren in bronst, terwijl gedurende de nachten 9 en 18 het controle vrouwtje in bronst was.

Resultaten en korte bespreking

In figuur 10-2 is te zien dat de mannetjes het stimulusvrouwtje zonder preputiaalklieren langer bezochten gedurende de nacht van bronst dan gedurende andere nachten (Friedman: nachten 1 t/m 5: $K=230$, $p<0,01$; nachten 11 t/m 15: $K=224$, $p<0,01$; nachten 21 t/m 24: $K=70$, ns). Het controle vrouwtje werd gedurende de nachten van haar bronst langer bezocht dan in andere nachten (Friedman: nachten 7 t/m 11: $K=162$, $p<0,05$; nachten 16 t/m 20: $K=302$, $p<0,01$). Gedurende de eerste bronst (nacht 3) van het vrouwtje zonder preputiaalklieren verbleven alle mannetjes de meeste tijd bij dit vrouwtje (rangtekentoets: $V=21$, $p<0,05$). Gedurende de volgende bronstperioden (de nachten 13 en 23) brachten 5 van de 6 mannetjes meer tijd bij haar door dan bij het controle vrouwtje. Gedurende de nachten van bronst van het controle vrouwtje (de nachten 9 en 18) verbleven 5 van de 6 mannetjes langer bij dit vrouwtje dan bij het niet-bronstige vrouwtje zonder preputiaalklieren.

Uit dit experiment mag geconcludeerd worden dat preputiaalklieren voor bronstige vrouwtjes niet noodzakelijk zijn om in de kruiskooi gedurende haar bronst het keuzegedrag van mannetjes zo te beïnvloeden dat de mannetjes een groot deel van de nacht in haar nabijheid doorbrengen. De aantrekkelijkheid van bronstige vrouwtjes wordt kennelijk door meerdere factoren bepaald, zoals in het tweede deel van experiment 1 ook al is gebleken.



Figuur 10-2.
 Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van 6 mannelijke ratten bij twee geovariectomeerde stimulusdieren. Bij één van de twee stimulusdieren waren de preputiaalklieren verwijderd (open kolommen). De stimulusvrouwtjes werden met oestradiolbenzooat (EB) en progesteron (P) in bronst gebracht.

Het eerste deel van experiment 1 liet zien dat mannelijke ratten toch langer bij een genarcotiseerd bronstig dier verbleven dan bij een wakker niet-bronstig vrouwtje. Blijkbaar zendt het vrouwtje geurprikkels uit die het mannetje naar haar lokken. Om te onderzoeken of de preputiaalklieren de produktieplaatsen zijn van deze seksuele lokstoffen -zoals in de literatuur wordt beschreven (zie o.a. Lucas, Donohoe & Thody [1982])- werden in het volgende experiment alle andere signalen behalve geurprikkels die een bronstige vrouwelijke rat kan uitzenden, door narcose, uitgeschakeld.

**Experiment 3: Effect van verwijdering van de preputiaalklieren;
narcose van de stimulusdieren**

Opzet

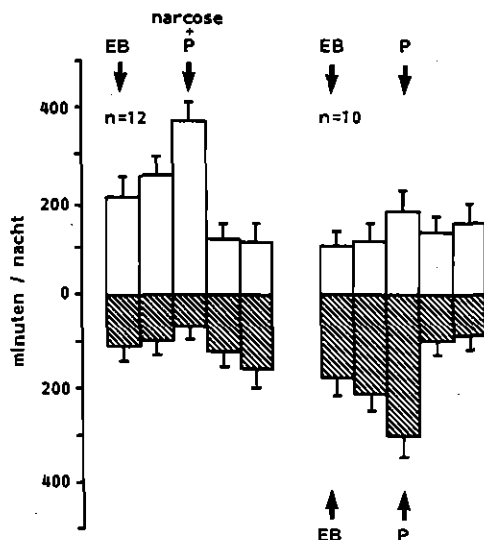
Twaalf mannelijke ratten verbleven in de kruiskooi terwijl in het ene stimuluskooitje een controle vrouwtje en in het andere kooitje een geovariectomeerde rat zonder preputiaalklieren aanwezig was. Het experiment bestond uit twee delen. In het eerste deel werd -na een adaptatieperiode waarin beide stimulusdieren eenmaal in bronst werden gebracht- het vrouwtje zonder preputiaalklieren in bronst gebracht zoals beschreven is in hoofdstuk 5. Op de dag van progesteron injectie kreeg zij een half uur voor het uitgaan van de lichten narcose toegediend, zoals beschreven bij experiment 1.

In het tweede deel van het experiment werden zowel het controle vrouwtje als het vrouwtje zonder preputiaalklieren tegelijkertijd in bronst gebracht.

Resultaten en korte bespreking

In het linker gedeelte van figuur 10-3 zijn de resultaten weergegeven van het eerste deel van het experiment. De mannetjes herkenden de bronst van het genarcotiseerde vrouwtje zonder preputiaalklieren, zoals blijkt uit de langere verblijfsduur bij haar gedurende de nacht van bronst dan gedurende andere nachten van haar kunstmatige cyclus (Friedman $K=519$, $p<0,01$). Ook brachten de mannetjes gedurende deze nacht van bronst meer tijd bij haar door dan bij het niet-bronstige controle stimulusdier (rangtekentoets: $V=72$, $p<0,01$).

De resultaten van het tweede gedeelte van dit experiment -beide stimulusvrouwtjes werden in bronst gebracht- zijn weergegeven in het rechter gedeelte van figuur 10-3. De gegevens van slechts 10 mannetjes konden worden gebruikt. Gedurende de nacht van bronst van het controle vrouwtje verbleven de mannetjes



Figuur 10-3. Gemiddelde ($\pm$ SEM) nachtelijke verblijfsduur van mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren. De open kolommen geven de verblijfsduur weer bij het stimulusdier waarvan de preputiaalklieren zijn verwijderd. In het rechtergedeelte werd het stimulusdier zonder preputiaalklieren gedurende de nacht van bronst onder narcose gebracht.

langer bij haar dan gedurende de andere nachten (Friedman: $K=386$, $p<0,01$). De verblijfsduur bij het stimulusdier zonder preputiaalklieren was nagenoeg constant gedurende de gehele kunstmatige cyclus (Friedman: $K=90$, ns). Gedurende de nacht van bronst toonden 7 van de 10 mannetjes de meeste belangstelling voor het controle vrouwtje (rangtekentoets $V=27$, ns). Hoewel de verblijfsduren bij de stimulusvrouwtjes gedurende de nacht van beider bronst niet statistisch significant verschilden verbleef het mannetje langer in de nabijheid van het controle stimulusdier gedurende deze nacht dan gedurende andere nachten van haar cyclus, terwijl de verblijfsduur bij het stimulusvrouwtje zonder preputiaalklieren over de cyclus nagenoeg constant was. De toename in verblijfsduur bij het controle vrouwtje ging dus ten

koste van de verblijfsduur elders in de kruiskooi.

De rol van preputiaalklieren in de produktie van seksuele lokstoffen, zoals deze in de literatuur beschreven wordt, kan door onze experimenten niet bevestigd worden.

Experiment 4: Effect van chirurgische sluiting van de vagina

Opzet

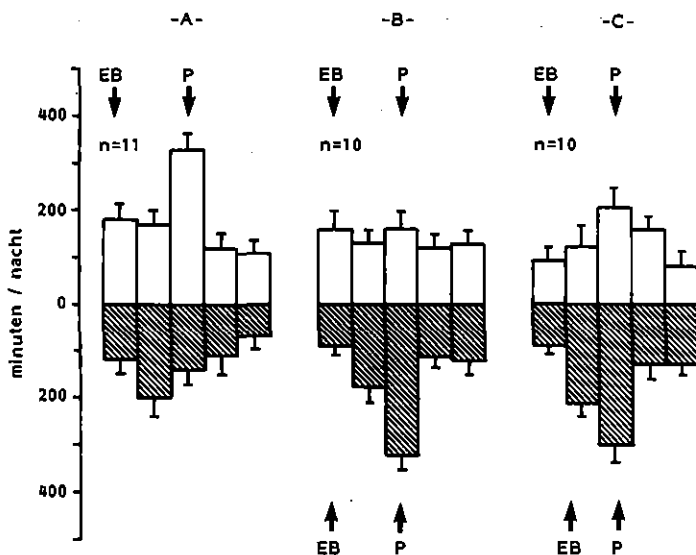
Bij twaalf geovariectomeerde vrouwelijke ratten werd onder ethernarcose de vagina chirurgisch gesloten, na deze ingedruppeld te hebben met 0,1 ml van een oplossing bestaande uit 150 mg/ml penicilline en 250 mg/ml streptomycine, ter voorkoming van eventuele pusvorming. Een week na deze ingreep werden deze dieren geplaatst in één van de twee stimuluskooitjes van de twaalf kruiskooien. In het andere stimuluskooitje verbleven geovariectomeerde vrouwtjes, terwijl intacte mannetjes als loopdieren werden gebruikt.

In het eerste deel van het experiment werden alleen de geovariectomeerde vrouwtjes met gesloten vagina in bronst gebracht (zie hoofdstuk 5). In het tweede en derde deel werden beide stimulusdieren gelijktijd in bronst gebracht.

Resultaten en korte bespreking

In figuur 10-4A is te zien dat de mannetjes gedurende de nacht van bronst van het geopereerde vrouwtje de meeste tijd bij haar doorbrachten, zowel in vergelijking met de verblijfsduur bij het niet-bronstige stimulusdier (rangtekentoets: $V_A=78$, $p<0.01$), als in vergelijking met de verblijfsduur bij haar gedurende de overige nachten van haar kunstmatige cyclus (Friedman: $K_A=838$, $p<0.01$).

Gedurende het tweede en derde deel van het experiment (figuren 10-4B en 10-4C) brachten de mannetjes tijdens de nacht



Figuur 10-4. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren. Bij één van de twee stimulusdieren was de vagina chirurgisch gesloten (witte kolommen). In deel A van de figuur werd slechts één stimulusdier in bronst gebracht. In deel B en C werden beide stimulusdieren in bronst gebracht.

van bronst van beide stimulusvrouwtjes meer tijd bij hen tezamen door dan gedurende andere nachten (Friedman: $K_B=430$, $p<0,01$; $K_C=274$, $p<0,05$). Echter, er was geen verschil tussen de verblijfsduur bij het bronstige vrouwtje, waarvan de vagina dicht was en de verblijfsduur bij het bronstige niet-geopereerde vrouwtje (rangtekentoets: $V_B=34$, ns; $V_C=31$, ns). Ook waren er geen significante verschillen tussen de verblijfsduren gedurende de kunstmatige cycli van de afzonderlijke stimulusdieren (Friedman: vagina dicht: $K_B=193$, ns; $K_C=219$, ns; vagina open: $K_B=220$, ns; $K_C=126$, ns). Hoewel uit deze gegevens geconcludeerd lijkt te kunnen worden dat de vagina van de bronstige rat geen stoffen afscheidt die beschouwd kunnen worden als zg. seksuele lokstoffen, kleven er aan het chirurgisch

sluiten van de vagina problemen. Aan het eind van het experiment was er namelijk toch pusophoping in de afgesloten vagina's ontstaan en hoewel de vagina's gesloten leken, is de mogelijkheid van lekkage niet uitgesloten.

Experiment 5: Effect van sterilisatie van de vagina

Opzet

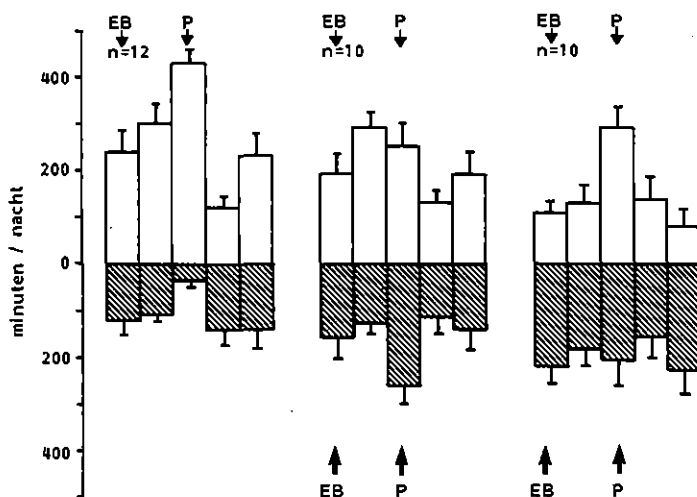
Voor dit experiment werden 11 intacte mannelijke ratten als looppier gebruikt. In beide stimuluskooitjes verbleven geovariectomeerde vrouwtjes, bij wie bronst op gebruikelijk wijze werd geïnduceerd (hoofdstuk 5). Een van de twee geovariectomeerde vrouwtjes werd dagelijks behandeld met antibiotica (het "steriele" vrouwtje). Met een injectiespuit (zonder naald) werd dagelijks 0,1 ml van een oplossing, bestaande uit 150 mg/ml penicilline en 250 mg/ml streptomycine, in de vagina gebracht. Tevens werd rond de vagina-opening wat oplossing gesmeerd met een wattenstaafje. Bouillonkweken van vaginale afscheiding die op de dag van bronst was afgenomen, bleven helder na 96 uur broeden in een stoof bij 37° C. Bij het andere geovariectomeerde stimulusdier werd dagelijks alleen wat van de antibiotica-oplossing rond de vagina aangebracht. Bouillonkweken van de vaginale afscheiding van dit vrouwtje waren na twee dagen broeden troebel.

Het experiment bestond uit drie delen. In het eerste deel werd alleen het steriele vrouwtje in bronst gebracht; in het tweede en derde deel werden beide stimulusdieren tegelijkertijd in bronst gebracht.

Resultaten en korte bespreking

In figuur 10-5A is te zien dat de mannetjes langer bij het steriele vrouwtje verbleven wanneer zij in bronst was. De

verblijfsduur bij dit bronstige steriele vrouwtje was significant langer zowel ten opzichte van de andere nachten van haar kunstmatige cyclus (Friedman: $K=504$, $p<0,01$) als ten opzichte van de verblijfsduur bij het niet-bronstige vrouwtje (rangtekentoets: $V=54$, $p<0,01$). In de figuren 10-5B en 10-5C



Figuur 10-5. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van mannelijke ratten bij geovariectomeerde stimulusdieren. De open kolommen geven de verblijfsduur weer bij het stimulusdier waarvan de vagina gedruppeld werd met een antibiotica oplossing. Zie verder legenda figuur 10-4.

zijn de resultaten weergegeven van het tweede en derde deel van dit experiment, waarbij beide stimulusdieren in bronst werden gebracht. Het is te zien dat gedurende de nacht van bronst de verblijfsduur bij het niet-steriele vrouwtje toenam (Friedman: $K_B=416$, $p<0,01$; $K_C=415$, $p<0,01$). De verblijfsduur bij het steriele vrouwtje bleef gedurende beide kunstmatige cycli constant (Friedman: $K_B=204$, ns; $K_C=230$, ns). Tijdens het tweede deel van het experiment (figuur 10-5B) verbleven alle tien

mannetjes gedurende de bronst van beide vrouwtjes, langer bij het niet-steriele vrouwtje dan bij het steriel vrouwtje (rangtekentoets: $V=55$, $p<0,01$). In het derde deel brachten 8 van de 10 mannetjes meer tijd bij het niet-steriele dier dan bij het steriele dier door (rangtekentoets: $V=37$, $0.05<p<0.1$). Door het overlijden van een stimulusdier konden in het tweede en derde gedeelte van het experiment slechts de gegevens van 10 mannetjes worden verwerkt.

De vaginale en vulvaire bacteriële flora bij de rat lijkt een bijdrage te leveren aan de produktie van lokstoffen door het bronstige vrouwtje.

BESPREKING

In experiment 1 (figuur 10-1) is gevonden dat mannelijke ratten gedurende de nacht van bronst naar een vrouwelijke rat toegaan ook al is dit stimulusvrouwtje onder narcose. Kennelijk zendt dit bronstige vrouwtje passief signalen uit die haar aantrekkelijk maken voor het mannetje. De enige signalen die dit genarcotiseerde vrouwtje kan uitzenden zijn geursignalen.

In tegenstelling tot hetgeen Stern [1970] in een vrije veld situatie bij eenzelfde keuze situatie vond, verbleven de mannetjes in het tweede gedeelte van experiment 1 wel langer bij een wakker bronstig vrouwtje dan bij een genarcotiseerd bronstig dier. Evenals Landauer, Wiese en Carr [1977] deden op grond van hun experimenten, kunnen we uit experiment 1 concluderen dat geurprikkelers een belangrijke rol spelen, maar tevens dat het bronstige vrouwtje ook andere signalen gebruikt om het mannetje naar zich toe te lokken.

Verwijdering van de preputiaalklieren beïnvloedde in de kruiskooi het keuzegedrag van het mannetje niet (figuur 10-2), ook niet wanneer het bronstige dier, zonder preputiaalklieren,

onder narcose was (figuur 10-3). Deze experimenten geven geen steun aan de conclusie van Lucas, Donohoe en Thody [1982] dat: "the preputial glands are an important source of sex attractants in the female rat". Hoewel niet duidelijk is wat de oorzaak is van de verschillen in gevonden resultaten tussen de experimenten van Lucas, Donohoe en Thody en de onderhavige experimenten, speelt de wijze van testen waarschijnlijk een belangrijke rol. Lucas et al vonden in hun experimenten -in een 2,5 minuten durende test kon het mannetje kiezen tussen twee tunneltjes waaruit lucht geblazen werd- namelijk ook dat door progesteron toediening aan een met oestradiolbenzooat voorbehandeld geovariectomeerd vrouwtje, dit vrouwtje (vier uur na progesteron toediening) voor een mannetje minder aantrekkelijk werd ten opzichte van een geovariectomeerd vrouwtje dat alleen met oestradiolbenzooat was behandeld. In de experimenten in dit proefschrift wordt juist een positief effect van progesteron op de aantrekkelijkheid van vrouwelijke ratten gevonden.

Hoewel de resultaten van experiment 4 (figuur 10-4) er op lijken te wijzen dat de vagina geen stoffen afscheidt die bijdragen aan de aantrekkelijkheid van een bronstige vrouwelijke rat, moet getwijfeld worden of in dit experiment de vagina wel gesloten was nu uit experiment 5 blijkt (figuur 10-5) dat de bacteriële flora van de vulva en de vagina van de rat juist wel een bijdrage aan haar aantrekkelijkheid leveren. Hoewel het bij hamsters bekend is dat de vaginale flora een bijdrage levert aan de produktie van seksuele lokstoffen [O'Connell, Singer, Macrides & Pfaffmann 1978; Adams 1980; Kwan & Johnston 1980] is dit voor de rat nog niet beschreven.

In het volgende hoofdstuk zullen neonataal gecastreerde mannetjes als stimulusdieren gebruikt worden. Van deze mannetjes is bekend dat zij op volwassen leeftijd -na injectie met oestradiolbenzooat en progesteron- dezelfde gedragingen vertonen

als bronstige vrouwelijke ratten [Fadem & Barfield 1981]. Wanneer deze neonataal gecastreerde mannetjes die geen vagina hebben in dezelfde mate aantrekkelijk blijken te zijn als vrouwelijke stimulusdieren, kan een uitspraak gedaan worden over de rol van de vagina als bron van seksuele lokstoffen.

In het voorgaande is uitsluitend aandacht gegeven aan communicatie door middel van geursignalen. Zoals uit de experimenten met genarcotiseerde vrouwelijke ratten blijkt, maken bronstige vrouwtjes van meerdere typen signalen gebruik om een mannelijke rat naar zich toe te trekken en in hun nabijheid te houden. Zoals in hoofdstuk 9 is uiteengezet zullen zowel het gedrag als ultrasonore vocalisaties hierbij een rol kunnen spelen.

SAMENVATTING

In het eerste experiment is aangetoond dat mannelijke ratten langer bij een bronstige dan bij een niet-bronstige vrouwelijke rat verblijven, ook al is de eerste onder narcose. Een genarcotiseerd bronstig vrouwtje is minder aantrekkelijk voor een mannetje dan een wakker bronstig vrouwtje.

Verwijdering van de preputiaalklieren van een vrouwelijke rat had geen effect op het keuzegedrag van een mannelijke rat: in de nacht van bronst verbleef het mannetje langer bij haar dan bij een niet-bronstig vrouwtje. Ook maakte het mannetje geen onderscheid tussen een bronstig vrouwtje met, en een bronstig vrouwtje zonder preputiaalklieren.

Sluiting van de vagina had geen effect op de voorkeur van het mannetje voor de bronst van een vrouwtje. Er werd wel een mogelijk effect van de vaginale bacteriële flora op de aantrekkelijkheid van een bronstig vrouwtje vastgesteld.

HOOFDSTUK 11

MANNELIJKE RATTEN ALS STIMULUSDIEREN

INLEIDING

In hoofdstuk 2 is uiteengezet dat bij de effecten van geslachtshormonen een *activerende* en een *organiserende* werking onderscheiden kan worden. Toediening van testosteron aan vrouwelijke ratten in de neonatale periode heeft tot gevolg dat op volwassen leeftijd lordosegedrag minder makkelijk of minder frequent voorkomt terwijl beklimgedrag makkelijker of vaker voorkomt. Neonatale castratie daarentegen leidt er toe dat mannelijke ratten op volwassen leeftijd meer lordosegedrag vertonen en minder beklimgedrag [Beach, Noble & Orndoff 1969; Goy & Goldfoot 1973; Baum 1979]. De aanwezigheid van testosteron rond de geboorte heeft kennelijk gevolgen voor de wijze waarop ratten in volwassenheid reageren op de activerende werking van geslachtshormonen op lordose- en beklimgedrag (beide zijn gedragingen uit de eindfase van een seksuele interactie; zie hoofdstuk 2).

De invloed van neonataal aanwezige hormonen op proceptieve gedragingen van het vrouwtje [Gerall, Hendricks, Johnson & Bounds 1967; Fadem & Barfield 1981] en appetitieve gedragingen van het mannetje (hoofdstukken 7 en 8) zijn onderwerp geweest van een aantal onderzoeken. Echter, weinig is bekend over de relatie tussen neonatale endocriene manipulatie van een stimulusdier en de aantrekkelijkheid van dit dier op volwassen leeftijd.

De Jonge, Meyerson en van de Poll [1986] onderzochten in een vrije veld situatie met twee stimuluskooitjes de invloed van

neonatale hormonale manipulatie van stimulusdieren op het keuzegedrag van een mannelijke rat (als maat voor de aantrekkelijkheid van de stimulusdieren). De belangrijkste resultaten van deze experimenten zijn vermeld in tabel 11-1. Samenvattend kan gezegd worden dat na neonatale toediening van testosteronpropionaat vrouwtjes op volwassen leeftijd minder aantrekkelijk zijn dan neonataal onbehandelde vrouwtjes, terwijl neonataal gecastreerde mannetjes even aantrekkelijk zijn als neonataal met testosteronpropionaat behandelde vrouwtjes.

Tabel 11-1.

Voorkeur van een seksueel ervaren mannelijke rat bij een keuze tussen 2 stimulusdieren in een 15 min durende vrije veld situatie (de Jonge, Meyerson & van de Poll, 1986).

Neonatale behandeling	Volwassen behandeling		Volwassen behandeling	Neonatale behandeling
TP	ovex + olie	<	ovex + olie	geen
TP	ovex + EB	<	ovex + EB	geen
TP	ovex + TP	<	ovex + TP	geen
TP	ovex + olie	>	cast + olie	geen
TP	ovex + EB	>	cast + EB	geen
TP	ovex + TP	=	cast + TP	geen
TP	ovex + olie	=	olie	cast
TP	ovex + EB	=	EB	cast
TP	ovex + TP	=	TP	cast

EB=oestradiol benzoaat; TP=testosteron propionaat; cast=gecastreerd; ovex=geovariectomeerd.

In dit hoofdstuk worden twee experimenten beschreven waarin werd onderzocht of toediening van oestradiolbenzoaat tezamen met progesteron een gecastreerde rat aantrekkelijk maakt voor een intact mannelijk loofdier. In het eerste experiment werd deze castratie op volwassen leeftijd uitgevoerd, terwijl dit in het tweede experiment binnen vierentwintig uur na de geboorte gebeurde.

Experiment 1: In volwassenheid gecastreerde mannelijke ratten als stimulusdier

Opzet

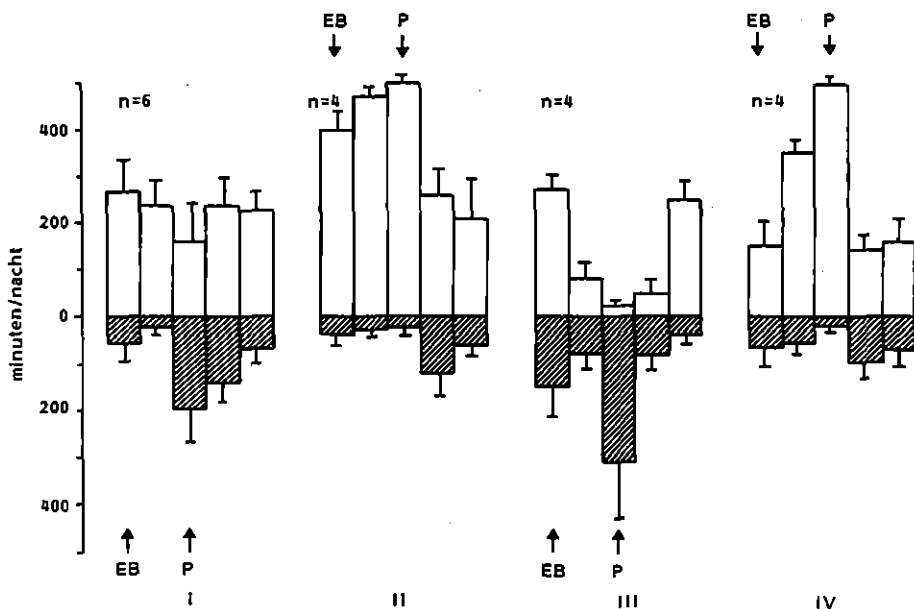
Zes mannelijke ratten werden op de leeftijd van ongeveer 7 weken gecastreerd. Ruim twee maanden later werden ze in een van de twee stimuluskooitjes van zes kruiskooien geplaatst. In het andere stimuluskooitje werd een geovariectomeerd vrouwtje geplaatst. Intacte mannelijke ratten werden als loopdieren gebruikt.

De stimulusdieren werden beurtelings behandeld met oestradiolbenzooat, twee etmalen later gevolgd door progesteron (zie hoofdstuk 5). Het gecastreerde mannelijke stimulusdier werd als eerste behandeld, een week later gevolgd door het geovariectomeerde dier. Beide stimulusdieren werden tweemaal behandeld.

Resultaten

In figuur 11-1 zijn de verblijfsduren van de mannetjes gedurende de vier behandelingsperioden van de stimulusdieren weergegeven. Duidelijk is te zien dat mannelijke ratten in de nacht volgend op de progesteron toediening aan het gecastreerde stimulusdier langere tijd bij hem doorbrachten dan gedurende andere nachten van de behandelingsperioden (Friedman: $K_1 = 138$, $p < 0,05$; $K_2 = 115$, $p < 0,01$; door defecte fotodetectoren konden vanaf de tweede behandelingsperiode de gegevens van slechts 4 mannetjes worden gebruikt).

Gedurende de eerste behandelingsperiode verbleven 3 van de 6 mannelijke loopdieren langer bij het met oestradiolbenzooat en progesteron behandelde gecastreerde dier dan bij het onbehandelde geovariectomeerde dier. Gedurende de overige nachten verbleven de loopdieren meer tijd bij het geovariectomeerde vrouwtje dan



Figuur 11-1. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van intacte mannetjes bij een geovariectomeerd stimulusdier (open kolommen) of een gecastreerd stimulusdier (gearceerde kolommen). EB en P geven de momenten aan waarop de stimulusdieren met hormonen werden behandeld.

bij het gecastreerde mannetje (rangtekentoets: $V=21$ $p<0,05$).

Gedurende de tweede behandelingsperiode -het geovariectomeerde stimulusdier werd in bronst gebracht- was deze voorkeur van de loopdieren voor het geovariectomeerde vrouwtje nog duidelijker. Gedurende de eerste drie nachten verbleven alle loopdieren (4) langer bij het vrouwtje dan bij het gecastreerde mannetje. De verblijfsduur bij het geovariectomeerde vrouwtje was gedurende de nacht van bronst significant langer dan gedurende de twee nachten daaropvolgend (Friedman: $K=140$, $p<0,01$).

In de derde behandelingsperiode verbleven 3 (steeds

wisselende) van de 4 mannelijke loofdieren langer bij het geovariectomeerde stimulusdier, behalve in de nacht na progesteron toediening aan het gecastreerde stimulusdier. In die nacht verbleven alle mannetjes langere tijd bij het gecastreerde dier dan bij het geovariectomeerde dier. De verblijfsduur bij het gecastreerde dier in de nacht na progesteron toediening verschilde significant van de verblijfsduur bij hem gedurende andere nachten van de behandelingsperiode (Friedman: $K=115$, $p<0,01$). De verblijfsduur bij het geovariectomeerde stimulusdier was gedurende die nacht ook significant korter in vergelijking met de verblijfsduur bij haar gedurende andere nachten (Friedman: $K=116$, $p<0,01$).

In de vierde behandelingsperiode verbleven de loofdieren significant langer bij het geovariectomeerde vrouwtje gedurende de nacht van haar bronst dan gedurende andere nachten (Friedman: $K=134$, $P<0,01$). Bij het gecastreerde mannetje waren geen significante verschillen in de verblijfsduren tussen de diverse nachten (Friedman: $K=55$, ns).

De verblijfsduur gedurende de nacht na progesteron toediening was in beide behandelingsperiodes langer bij de vrouwtjes ($\bar{x} \pm \text{SEM}: 509,1 \pm 15,12 \text{ min/nacht}$) dan bij de mannetjes ($\bar{x} \pm \text{SEM}: 244,5 \pm 77,88 \text{ min/nacht}$; rangtekentoets: $V=21$, $p<0,05$).

Experiment 2: Neonataal gecastreerde mannetjes als stimulusdier

Opzet

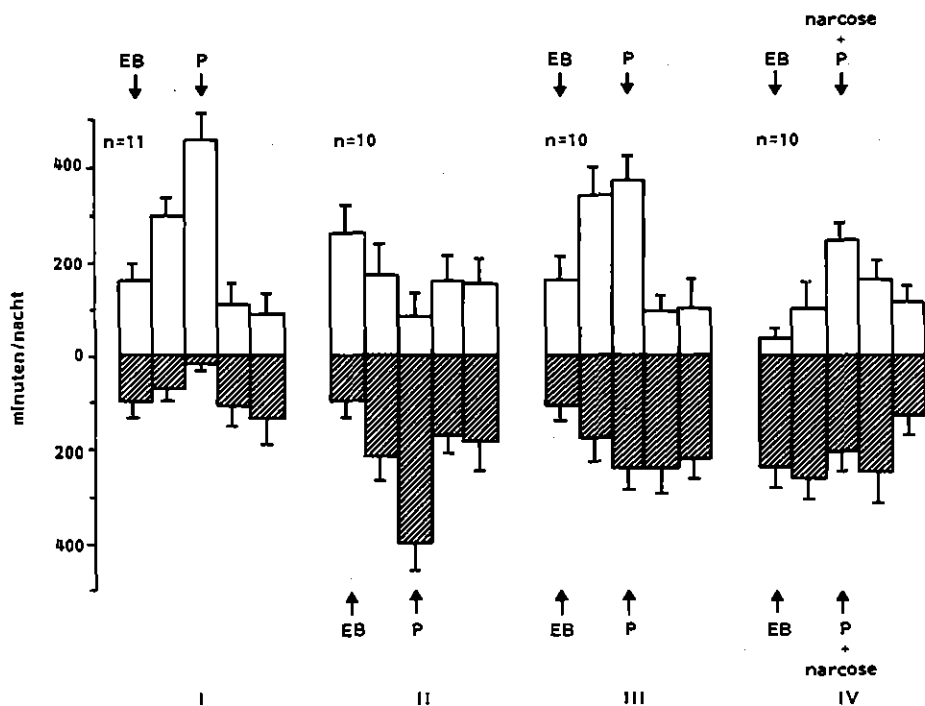
Twaalf mannelijke ratten werden binnen 24 uur na de geboorte gecastreerd. Op de leeftijd van 3 maanden werden ze in een van de twee stimuluskooitjes van de twaalf kruiskooien geplaatst. In het andere stimuluskooitje verbleef een geovariectomeerd vrouwtje. Intacte mannetjes werden als loofdieren gebruikt. Er zijn vier behandelingsperiodes. In de eerste periode werden de

geovariectomeerde stimulusdieren in bronst gebracht met oestradiolbenzooat en progesteron (zie hoofdstuk 5). In de tweede periode kregen de neonataal gecastreerde mannetjes deze behandeling. In de derde en vierde periode werden beide stimulusdieren met oestradiolbenzooat en progesteron behandeld; in de vierde periode waren beide stimulusdieren onder narcose in de nacht na progesteron toediening (zie hoofdstuk 10).

Resultaten

In figuur 11-2 zijn de resultaten weergegeven. De eerste behandelingsperiode laat het bekende beeld zien: gedurende de bronst van het stimulusvrouwtje brengt het mannetje meer tijd bij haar door dan gedurende andere nachten (Friedman: $K=678$, $p<0,01$). De verblijfsduur bij het neonataal gecastreerde stimulusdier was gedurende de nacht van bronst korter in vergelijking met andere nachten (Friedman: $K=358$, $p<0,01$). Gedurende de nacht van bronst brachten 10 van de 11 mannetjes meer tijd bij het bronstige dier door dan bij het neonataal gecastreerde dier (rangtekentoets: $V=64$, $p<0,01$). Er werd geen significant verschil gevonden tussen de totale verblijfsduur bij het neonataal gecastreerde dier en de totale verblijfsduur bij het geovariectomeerde stimulusdier gedurende de nachten dat het geovariectomeerde dier niet in bronst was (rangtekentoets $V=24$, ns).

Gedurende de tweede behandelingsperiode -alleen het neonataal gecastreerde mannetje werd behandeld met oestradiolbenzooat en progesteron- bezochten de mannetjes het neonataal gecastreerde mannetje langer in de nacht na progesteron toediening dan gedurende andere nachten van de behandelingsperiode (Friedman: $K=550$, $p<0,01$) en langer dan het geovariectomeerde vrouwtje (rangtekentoets: $V=45$, $p<0,05$).



Figuur 11-2. Gemiddelde (+ SEM) nachtelijke verblijfsduur van intacte mannetjes bij een geovarietomeerd stimulusdier (open kolommen) en een neonataal gecastreerd stimulusdier (gearceerde kolommen).

In de derde behandelingsperiode -beide stimulusdieren werden met oestradiolbenzooat en progesteron behandeld- verbleven 6 van de 10 loopdieren in de nacht na progesteron toediening langer bij het geovarietomeerde dier dan bij het neonataal gecastreerde dier (rangtekentoets: $V=30$, ns). Ook verbleven ze bij het bronstige vrouwtje langer dan gedurende andere nachten van haar cyclus (Friedman: $K=330$, $P<0,01$). De verblijfsduren bij het neonataal gecastreerde mannetje vertoonden geen verschillen gedurende de behandelingsperiode (Friedman $K=164$, ns).

In de vierde behandelingsperiode -beide stimulusdieren werden met hormonen behandeld en onder narcose gebracht- verbleven 6

van de 10 loopdieren langer bij het bronstige vrouwtje dan bij het mannetje (rangtekentoets: $V=32$, ns). Evenals gedurende behandelingsperiode III verbleven de loopdieren langer bij het geovariectomeerde dier na progesteron toediening dan gedurende andere nachten (Friedman: $K=264$, $p<0,05$) terwijl de verblijfsduur bij de neonataal gecastreerde mannetjes nagenoeg constant bleef (Friedman: $K=105$, ns). De totale verblijfsduur gedurende de twee nachten voor en de twee nachten na progesteron toediening bij het neonataal gecastreerde dier was significant langer dan de totale verblijfsduur bij het geovariectomeerde dier (rangtekentoets $V=45$, $p<0,05$)

BESPREKING

Experiment 1 laat zien dat mannelijke loopdieren langer bij een gecastreerd mannetje in de nacht na progesteron toediening dan gedurende andere nachten. Het is niet zondermeer duidelijk of hier sprake is van aantrekkelijkheid (zoals bedoeld in hoofdstuk 2) van dit mannelijke stimulusdier. Uit de literatuur is bekend dat het mogelijk is om bij (gecastreerde) mannetjes receptief en proceptief gedrag te induceren [Beach 1945; Gerall, Hendricks, Johnson & Bounds 1967; Södersten, de Jong, Vreeburg & Baum 1974; Södersten & Larsson 1975; Van de Poll & van Dis 1977; Schaeffer, Roos & Aron 1986]. Experiment 1 laat verder zien -door het grote verschil in verblijfsduren gedurende de nachten na progesteron toediening- dat onder dezelfde behandeling met oestradiolbenzooat en progesteron een gecastreerd mannetje minder aantrekkelijk is voor een mannelijk loopdier dan een vrouwtje.

Uit experiment 2 blijkt dat door neonatale castratie de aantrekkelijkheid van een mannelijke rat -na oestradiolbenzooat en progesteron toediening- toeneemt. Een neonataal gecastreerd

mannetje is, na oestradiolbenzooat en progesteron toediening, even aantrekkelijk als een op dezelfde wijze behandeld vrouwtje (figuur 11-2 deel 3). De resultaten van experimenten 1 en 2 te zamen met de resultaten van De Jonge, Meyerson en Van de Poll [1986] -zij behandelden stimulusvrouwtjes in de neonatale periode met testosteronpropionaat- geven steun aan de hypothese dat aantrekkelijkheid, evenals proceptiviteit en receptiviteit [Baum 1979; Fadem & Barfield 1981] beïnvloed wordt door androgenen in de neonatale periode.

Op grond van experiment 5 in hoofdstuk 10 is verondersteld dat de vagina een mogelijke bron van seksuele lokstoffen zou kunnen zijn. In het vierde deel van experiment 2 -zowel het neonataal gecastreerde mannetje als het geovariectomeerde vrouwtje waren gedurende de nacht na progesteron toediening onder narcose- bleken beide stimulusdieren even aantrekkelijk te zijn voor het mannelijke looppier. Aangezien de looppieren alleen gebruik konden maken van passief uitgezonden signalen door de stimulusdieren, hebben zij de bronst gedetecteerd door geurprikkelers. Omdat neonataal gecastreerde mannetjes geen vagina hebben blijkt uit de resultaten van het onderhavige experiment dat de vagina als bron van seksuele lokstoffen waarschijnlijk van ondergeschikt belang is.

SAMENVATTING

In dit hoofdstuk zijn twee experimenten beschreven waarin mannelijke ratten als stimulusdieren werden gebruikt. In experiment 1 werd het effect van toediening van oestradiolbenzooat en progesteron aan in volwassenheid gecastreerde stimulusdieren onderzocht. Het bleek dat door deze behandeling de mannelijke stimulusdieren aantrekkelijk werden voor mannelijke looppieren. Zij waren evenwel minder

aantrekkelijk dan bronstige vrouwelijke stimulusdieren. In experiment 2 bleek dat door neonatale castratie mannelijke ratten, na oestradiolbenzooat en progesteron behandeling op volwassen leeftijd, even aantrekkelijk werden als bronstige vrouwelijke ratten.

HOOFDSTUK 12

SAMENVATTING

Dit proefschrift bevat de resultaten van onderzoek naar aspecten van toenadering tussen een mannelijke rat en een bronstige vrouwelijke rat. Een dergelijke toenadering is een eerste gedrag in een reeks die uiteindelijk leidt tot paring.

In hoofdstuk 2 wordt een overzicht gegeven van onderzoek dat is verricht naar relaties tussen geslachtshormonen en paringsgedrag. Een vrouwelijke rat is eenmaal in de 4 of 5 dagen in bronst. Een van de kenmerkende gedragingen tijdens de bronst is het hollen van de rug (lordose) door het vrouwtje in reactie op een beklimming door het mannetje. Door deze lordose maakt het vrouwtje intromissies en ejaculatie door het mannetje mogelijk. Na verwijdering van beide ovaria (ovariectomie) komt een vrouwelijke rat niet meer in bronst. Het is echter mogelijk om door toediening van oestradiolbenzooat en progesteron een geovariectomeerde rat kunstmatig in bronst te brengen.

Verwijdering van de testes (castratie) bij een volwassen mannelijke rat leidt in een aantal weken tot maanden tot een afname van het paringsgedrag. Het ejaculatiegedrag verdwijnt als eerste, gevolgd door het intromissiegedrag. Het beklimgedrag verdwijnt als laatste. Toediening van testosteron aan een gecastreerde rat heeft tot gevolg dat deze na verloop van tijd weer alle componenten van paringsgedrag gaat vertonen.

Testosteron wordt in het lichaam omgezet in dihydrotestosteron en oestradiol. Toediening van dihydrotestosteron doet een aantal effecten van castratie teniet,

zoals de gewichtsvermindering van de prostaat en zaadblazen en anatomische veranderingen aan de penis. Dit omzettingsprodukt van testosteron heeft echter bij de meeste stammen ratten een gering effect op het paringsgedrag. Toediening van oestradiol doet het paringsgedrag gedeeltelijk terugkeren, maar herstelt de andere effecten van castratie niet. Toediening van beide omzettingsprodukten van testosteron te zamen doet het effect van castratie op het paringsgedrag geheel teniet: de gecastreerde mannetjes vertonen paringsgedrag alsof ze niet gecastreerd zijn.

Het is gebleken dat ook een (geovariectomeerde) vrouwelijke rat onder bepaalde omstandigheden beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag kan vertonen. Naast aanwezigheid van testosteron op volwassen leeftijd, speelt de aanwezigheid van testosteron rond de geboorte hierbij een belangrijke rol. Wanneer een rat vlak na de geboorte aan testosteron wordt blootgesteld, zal het dier op volwassen leeftijd vrij gemakkelijk beklim-, intromissie- en ejaculatiegedrag vertonen. Bij de mannelijke rat produceren de testes rond de geboorte testosteron. Ratten die rond de geboorte zijn blootgesteld aan testosteron vertonen op volwassen leeftijd minder frequent lordosegedrag dan ratten die niet aan testosteron zijn blootgesteld (vrouwelijke ratten of mannelijke ratten die vlak na de geboorte zijn gecastreerd). In de literatuur zijn aanwijzingen te vinden dat deze werking van testosteron rond de geboorte tot stand komt door oestradiol, dat gevormd is uit testosteron.

In de experimenten die in dit proefschrift beschreven zijn, is onderzocht op welke wijze bovengenoemde hormonale invloeden op paringsgedrag, effecten hebben op toenaderingsgedrag van ratten. Om toenadering te bestuderen is gebruik gemaakt van een kruisvormige woonkooi.

In hoofdstuk 3 is deze woonkooi beschreven. In de kruisvormige woonkooi heeft het looppier vrij toegang, via korte

gangetjes, tot vier eindkooitjes. Boven twee van deze eindkooitjes (B en D) bevindt zich een kooitje met een stimulusdier. Het looppdier kan in de nabijheid van deze stimulusdieren toeven, terwijl hij het stimulusdier kan horen, zien en ruiken. De gazen scheiding tussen het stimulusdier en het looppdier zorgt ervoor dat lichamelijk contact slechts beperkt mogelijk is. Het tijdstip en de tijdsduur van ieder bezoek aan een eindkooitje worden door fotodetectoren geregistreerd. Hieruit kan het aantal excursies naar en de verblijfsduur in een eindkooitje gedurende een bepaalde periode (bijvoorbeeld een etmaal of een nacht) berekend worden. Een langer verblijf in de nabijheid van één van de twee stimulusdieren wordt opgevat als een (partner)voorkeur voor dit stimulusdier.

Als proefdieren werden seksueel onervaren ratten gebruikt. Steeds werden mannelijke ratten als looppdier gebruikt met uitzondering van de experimenten die in hoofdstuk 8 zijn beschreven. Als stimulusdieren werden vrouwelijke ratten gebruikt. Alleen bij de experimenten beschreven in hoofdstuk 11 verbleef in één stimuluskooitje een mannelijke rat met in het andere stimuluskooitje een vrouwtje.

In de experimenten in dit proefschrift werden de omzwervingen van het looppdier gedurende weken gevolgd. Gedurende de eerste dagen van het verblijf in de kruisvormige woonkooi maakten mannelijke looppdieren vrij veel *excursies* naar alle vier eindkooitjes. In de loop van ongeveer tien dagen daalde dit aantal excursies naar een constant laag niveau. Gedurende de donkerperiode (21.00 uur tot 7.00 uur) maakten de looppdieren meer excursies dan gedurende de lichtperiode. Indien geen stimulusdieren aanwezig waren in de kooitjes op de eindkooitjes B en D, bezochten de mannetjes alle eindkooitjes met nagenoeg dezelfde frequentie. Echter, indien er in beide kooitjes geovariectomeerde stimulusdieren aanwezig waren, werden die eindkooitjes (B en D) frequenter bezocht dan de andere twee

eindkooitjes, waar respectievelijk water (A) en voer (C) aanwezig was.

De *verblijfsduur* van de mannetjes in eindkooitjes B en D werd niet beïnvloed door de aanwezigheid van onbehandelde geovariectomeerde stimulusvrouwtjes. Ook zonder deze stimulusvrouwtjes brachten de mannetjes ongeveer 20 procent van de tijd in zowel eindkooitje B als eindkooitje D door. Tussen de verblijfsduren in eindkooitjes B en D was geen significant verschil. Het eindkooitje waarop zich de waterfles bevond (A) werd het langdurigst bezocht, terwijl het eindkooitje waar zich het voer (C) bevond slechts zeer kort bezocht werd.

In hoofdstuk 4 is het keuzegedrag van mannetjes onderzocht wanneer in het ene kooitje een intact vrouwtje en in het andere kooitje een geovariectomeerd vrouwtje verbleef. In de nachten tussen prooestrus en oestrus -bepaald aan de hand van een vaginaal uitstrijkje- was de *verblijfsduur* bij het intacte vrouwtje significant langer dan de verblijfsduur bij haar gedurende andere nachten van haar cyclus. De mannetjes brachten gedurende de nachten van bronst meer dan 50 procent van hun tijd bij het intacte vrouwtje door. De verblijfsduur bij het geovariectomeerde dier was gedurende de nachten van bronst van het intacte vrouwtje korter dan gedurende andere nachten.

Het aantal *excursies* naar beide vrouwtjes was gedurende de tweede bronst van het intacte vrouwtje hoger dan gedurende andere nachten. Tijdens de derde en vierde bronst maakten de mannetjes alleen naar het bronstige vrouwtje meer excursies.

In hoofdstuk 5 is het effect van oestradiolbenzooat en progesteron toediening aan geovariectomeerde stimulusvrouwtjes beschreven. Mannelijke ratten vertoonden een voorkeur om in de nabijheid te verblijven van een geovariectomeerde rat die kunstmatig in bronst was gebracht met oestradiolbenzooat en

progesteron. Indien een geovariectomeerd vrouwtje uitsluitend met oestradiolbenzooat was behandeld vertoonden de mannetjes geen voorkeur voor haar.

In hoofdstuk 6 is het effect van castratie op de voorkeur van mannelijke ratten voor bronstige vrouwtjes beschreven. Castratie leidde niet onmiddellijk tot een verdwijnen van de voorkeur voor het bronstige vrouwtje. De eerste en tweede maal dat het intacte vrouwtje in bronst was -ongeveer 4 en 9 dagen na castratie- vertoonden de gecastreerde mannetjes nog een voorkeur voor haar. Gedurende de volgende nachten van bronst was van een dergelijke voorkeur geen sprake meer. Opvallend was dat de mannetjes onmiddellijk na castratie wel reeds korter bij het intacte vrouwtje verbleven gedurende de nachten dat zij niet in bronst was. Implantering van een kunststof buisje met testosteron had tot gevolg dat de verblijfsduur van de mannetjes bij het intacte vrouwtje weer toenam. Ongeveer drie weken na implantering vertoonden de gecastreerde mannetjes weer de speciale voorkeur voor het intacte vrouwtje gedurende haar bronst.

Gecastreerde mannelijke ratten, die met oestradiol werden behandeld, toonden wel een voorkeur voor een bronstig vrouwtje, terwijl met dihydrotestosteron behandelde gecastreerde ratten een dergelijke voorkeur niet vertoonden.

In hoofdstuk 7 zijn experimenten beschreven waarin het effect van verwijdering van de testes binnen 24 uur na de geboorte (neonatale castratie) op de partnerkeuze in volwassenheid is onderzocht. Neonataal gecastreerde mannelijke ratten, die op volwassen leeftijd met testosteron of oestradiol werden behandeld, vertoonden evenals intacte mannetjes een voorkeur voor een bronstig vrouwtje. Met dihydrotestosteron behandelde neonataal gecastreerde mannetjes toonden een dergelijke voorkeur niet. Deze laatste mannetjes verbleven nauwelijks in de

nabijheid van de geovariectomeerde stimulusdieren, in tegenstelling tot met dihydrotestosteron behandelde mannetjes, die op volwassen leeftijd waren gecastreerd.

In hoofdstuk 8 is het keuzegedrag van geovariectomeerde vrouwtjes onderzocht, terwijl andere geovariectomeerde vrouwtjes als stimulusdieren dienden. Geovariectomeerde loopdieren, behandeld met oestradiolbenzooat en progesteron, toonden geen voorkeur voor een bronstig stimulusdier. Toediening van testosteron aan geovariectomeerde loopdieren had tot gevolg dat zij wel een voorkeur vertoonden om in de nabijheid van een bronstige rat te verblijven. In tegenstelling tot gecastreerde mannetjes, vertoonden geovariectomeerde vrouwtjes tijdens oestradiol toediening géén voorkeur voor een bronstig vrouwtje. Indien oestradiol en dihydrotestosteron te zamen werden toegediend aan deze geovariectomeerde loopdieren, vertoonden zij wél een voorkeur voor een bronstige seksegenoot.

In hoofdstuk 9 zijn aan de hand van literatuurgegevens de mogelijke signalen besproken die de aantrekkelijkheid van een bronstige vrouwelijke rat bepalen. Uit de literatuurgegevens komt naar voren dat geursignalen (feromonen) een belangrijke communicatieve en regulerende rol spelen bij de voortplanting van de rat. Op grond van het effect worden twee groepen feromonen onderscheiden: gangmakende en seinende feromonen. Feromonen uit de eerste groep hebben een effect op een neuroendocrien proces (bijvoorbeeld regulatie van de zwangerschap, lengte van de ovariële cyclus of begin van de puberteit). Seinende feromonen kunnen een gedragsverandering bewerkstelligen. Seksuele lokstoffen behoren tot de groep seinende feromonen.

In hoofdstuk 10 zijn een aantal mogelijke bronnen van geursignalen die de aantrekkelijkheid van een vrouwelijk rat

bepalen, nader onderzocht. Allereerst is onderzocht of in de kruiskooi geursignalen een rol spelen. Door een bronstige rat onder narcose te brengen werden alle andere communicatieve prikkels uitgeschakeld. De mannetjes bleven een voorkeur houden voor dit genarcotiseerde bronstige dier boven een wakker niet-bronstig dier. Een wakker bronstig dier was evenwel aantrekkelijker voor de mannetjes dan een genarcotiseerd bronstig dier.

In de literatuur wordt vermeld dat de preputiaalklieren van de rat een belangrijke bron van seksuele lokstoffen zijn. Preputiaalklieren zijn gespecialiseerde talgklieren die vlak boven de symphysis pubis liggen. De afvoerbuizen van deze klieren monden vlak naast de meatus urethrae uit. Echter, in experimenten in de kruisvormige woonkooi had verwijdering van de preputiaalklieren bij het bronstige stimulusvrouwtje geen effect op haar aantrekkelijkheid: mannelijke ratten maakten geen onderscheid tussen bronstige vrouwtjes met of zonder preputiaalklieren.

Chirurgische sluiting van de vagina beïnvloedde de aantrekkelijkheid van een bronstig stimulusdier niet. Daarentegen verbleven de mannetjes korter bij een bronstig vrouwtje waarvan de vulva en vagina dagelijks met een antibiotica-oplossing behandeld werd. Op grond van deze laatste bevinding werd geconcludeerd dat de vaginale en vulvaire bacteriële flora een bijdrage leveren aan de produktie van seksuele lokstoffen gedurende de bronst van een rat.

In hoofdstuk 11 is onderzocht of mannelijke ratten gecastreerde dieren aantrekkelijk vinden, wanneer deze met oestradiolbenzooat en progesteron behandeld worden. Het bleek mogelijk om op deze wijze bij op volwassen leeftijd gecastreerde ratten aantrekkelijkheid te induceren, zij het in minder mate dan bij geovariectomeerde vrouwtjes. Neonataal gecastreerde

mannetjes daarentegen -op volwassen leeftijd met oestradiolbenzooat en progesteron behandeld- waren even aantrekkelijk als op dezelfde wijze behandelde geovariectomeerde vrouwtjes.

De resultaten van de experimenten uit dit proefschrift zijn als volgt samen te vatten. Testosteron activeert bij een mannelijke rat de voorkeur voor een bronstige vrouwelijke rat. Oestradiol heeft eenzelfde effect als testosteron, terwijl dihydrotestosteron ineffectief is. In de neonatale periode vindt er geen "organisatie" van dit keuzegedrag plaats: zowel geovariectomeerde vrouwtjes als neonataal gecastreerde mannetjes vertonen op volwassen leeftijd een voorkeur voor een bronstig vrouwtje, mits zij met testosteron of oestradiol behandeld worden.

De aantrekkelijkheid van een rat wordt geactiveerd door een synergistische werking van oestradiol en progesteron. Aanwezigheid van testes in de neonatale periode heeft een negatieve invloed op de aantrekkelijkheid op volwassen leeftijd.

De aantrekkelijkheid van bronstige ratten wordt mede bepaald door geursignalen. Er zijn aanwijzingen dat de bacteriële vaginale en vulvaire flora een rol kunnen spelen bij de produktie van deze geursignalen. Een -op grond van de literatuur veronderstelde- rol van de preputiaalklieren in deze produktie kon niet worden aangetoond.

HORMONES AND PARTNER PREFERENCE IN THE RAT

SUMMARY

This thesis is concerned with aspects of the approach of a male rat to an oestrous female rat under laboratory conditions. The approach of a male to an oestrous female is an early behaviour in a long sequence of behaviours which results in copulation.

Chapter 2 is a review of the literature concerning gonadal hormones and sexual behaviour. A female rat is in heat, oestrus, once every 4 or 5 days. One of the characteristic behaviours during heat is lordosis of the female in response to attempts to mount by the male rat. This lordosis allows intromissions and ejaculation by the male. When a female rat has been ovariectomized she will no longer come in heat naturally. It is possible to induce heat artificially in an ovariectomized female by means of subcutaneous injections with oestradiol benzoate and progesterone.

Castration of a male rat is followed by a gradual decline of mating activity over a couple of weeks or even months. Ejaculation is the first behaviour to disappear, followed some time later by intromission. Mounting behaviour disappears more slowly. Administration of testosterone to a castrated male rat restores all components of mating behaviour in the course of a few weeks.

Administration of dihydrotestosterone to castrated rats

restores some of the effects of castration, such as the weight loss of the ventral prostate and the seminal vesicles and anatomical changes of the penis. In most strains of rats dihydrotestosterone only partially restores the effects of castration on mating behaviour. On the other hand, oestradiol partially reverses the behavioural effects, while it does not restore most of the somatic effects of castration. Administration of both these metabolites of testosterone totally reverses the effects of castration on mating behaviour; castrated rats thus treated show mating behaviour indistinguishable from that of intact males.

It is known that under certain circumstances a female rat may show mounting, intromission and ejaculation behaviour. In adulthood testosterone has an activating effect. During the perinatal period it has an organizing effect. A rat exposed to testosterone perinatally will subsequently display mounting, intromission and ejaculation behaviour in response to testosterone in adulthood more frequently than a rat which has not been exposed to testosterone during the neonatal period. In the male rat the testes produce testosterone during the neonatal period. Rats which have been exposed to testosterone during the neonatal period will show less lordosis behaviour in adulthood than rats which have not been exposed to testosterone during that critical period (females or neonatally castrated male rats). There is evidence to suggest that this action of testosterone in the neonatal period is mediated by aromatization of this hormone to oestradiol.

The main theme of the experiments in this thesis is: do these hormones that are known to influence mating behaviour also influence the approach behaviour between two rats. An artificial habitat with the shape of a Greek cross (a plus-maze) was used to study the approach behaviour between two rats.

In chapter 3 this residential plus-maze is described. From a central box the resident rat had free access to four terminal boxes, through narrow 30 cm long arms. Two of these terminal boxes (B and D) were provided with small cages on the top. In these top-cages stimulus animals could be housed. The resident rat could see, hear and smell these stimulus animals, but close bodily contact was prevented by the wire-mesh bottom of these top-cages. The time and duration of each visit to a terminal box were recorded through photoelectric cells. The number of excursions and the total time spent in each terminal box during a defined period (e.g. during 24-hours or a dark-period) could be calculated. A longer stay in the neighbourhood of one of the two stimulus animals has been interpreted as a choice of or preference for this companion.

In all the experiments sexually naive adult male rats were used as resident animals, except in the experiments described in chapter 8 in which females rats were used. Adult female rats were used as stimulus animals. However, in the experiments which are described in chapter 11 a male rat was housed in one of the top-cages while the other top-cage housed a female rat.

In various experiments the whereabouts of the resident rat were monitored during several weeks. During the first few days of the stay in the plus-maze male residents made many excursions to all four terminal boxes. After ten days the total number of excursions had decreased to a constant low level. More excursions were made during the dark-period (21.00 h-7.00 h) than during the light-period. All terminal boxes were visited with the same frequency when the cages on top of terminal boxes B and D were empty. However, when two ovariectomized females were present in the top-cages the resident male rats made more excursions to these terminal boxes (B and D) than to terminal boxes A and C in which water and food were available.

The total time spent in terminal boxes B and D was not influenced by the presence of untreated ovariectomized female rats in the top-cages. The resident male rats spent about 20 percent of the time in each of the terminal boxes B and D, irrespective of the presence or absence of ovariectomized females in the top-cages.

In chapter 4 results are described of an investigation into the preference of sexually naive male rats when one top-cage housed an intact female and the other an ovariectomized female. The stage of the oestrous cycle of the intact female rat was determined by daily examination of vaginal smears. During the night between prooestrus and oestrus the male rats spent more time near the intact female rat than during other nights. During this particular night the male rats spent more than 50 percent of the time near the oestrous female, while they spent less time near the ovariectomized female rat than during other nights.

During the second night of oestrus of the intact female rat the males made more excursions to *both* females than during other nights. During the third and fourth night of oestrus the males made only more excursions to the oestrous female.

In chapter 5 effects are described of the administration of oestradiol benzoate and progesterone to one ovariectomized female stimulus rat while a second ovariectomized stimulus rat received no such treatment. Male rats preferred the company of an ovariectomized female rat which had been brought into heat artificially with a combination of oestradiol benzoate and progesterone. When the ovariectomized female rat was treated with oestradiol benzoate alone the male rats did not show such a preference.

In chapter 6 the effects are reported of castration of resident male rats on their preference for an intact oestrous female rat. Castration was not immediately followed by a disappearance of the preference. During the first and second time that the intact female was in heat -about 4 and 9 days after castration of the males- the latter still showed a preference to stay in her neighbourhood. However, during the following nights of oestrus this preference was no longer apparent. Immediately from the time of castration the male rats spent less time near the intact female during other nights of her oestrous cycle than they did before castration. Contrariwise, subcutaneous implantation of a silastic tube filled with testosterone immediately resulted in an increase in the time which the male rats spent near the intact female rat, while it took about 3 weeks before the special interest for the night of heat was displayed again.

Castrated male rats which were treated with oestradiol showed a preference for an oestrous female, while dihydrotestosterone treated castrated males did not.

In chapter 7 experiments are described in which the effect of castration within 24 hours after birth on partner choice in adulthood was investigated. Neonatally castrated male rats, which were treated in adulthood with testosterone or oestradiol showed a preference for an oestrous female rat, as did intact males. Dihydrotestosterone treated neonatally castrated male rats did not show such a preference. These latter animals hardly spent any time in the neighbourhood of the stimulus females, in contrast with dihydrotestosterone treated males castrated in adulthood.

In chapter 8 experiments are described in which an ovariectomized female was the resident animal, while other

ovariectomized females served as stimulus animals. Ovariectomized resident females which were treated with oestradiol benzoate and progesterone, did not show a preference for an oestrous female rat. Administration of testosterone to ovariectomized resident animals resulted in a preference for the oestrous female rat. In contrast with castrated male rats, ovariectomized females bearing a silastic oestradiol implant did not show a preference for an oestrous female. However, when oestradiol and dihydrotestosterone were administered together (by means of implants) ovariectomized females did stay longer in the neighbourhood of a female during the night of heat than during other nights.

In chapter 9 the possible signals which determine the attractivity of an oestrous female rat are discussed on the basis of literature data. These data suggest that olfactory signals (pheromones) play an important role in the communication between rats and the regulation of reproduction. On the basis of their effect, pheromones can be divided into two groups: releasing pheromones and signalling pheromones. Pheromones of the first group have an effect on a neuroendocrine process (e.g. controlling the maintenance of pregnancy, the length of the oestrous cycle and the onset of puberty). Signalling pheromones may elicit a behaviour. Sex attractants belong to the group of signalling pheromones.

In chapter 10 the results are reported of experiments on a number of possible sources of olfactory signals which determine female attractivity. First, it was investigated whether or not olfactory signals play a role in partner choice in the plus-maze. By narcotizing an oestrous female all communication signals were eliminated except olfactory ones. Male rats still showed a preference for this narcotized oestrous female. However, a

conscious oestrous female appeared to be more attractive than a narcotized one. Data from the literature suggest that the preputial glands of the rat are an important source of sex attractants. Preputial glands are a pair of specialized sebaceous glands situated along the midline just above the symphysis pubis. In the experiments in the plus-maze the removal of the preputial glands had no effect on the attractivity of an oestrous female; male rats did not discriminate between an oestrous female without preputial glands and an oestrous female with preputial glands.

Surgical closure of the vagina had no effect on the attractivity of an oestrous female rat. However, male rats spent less time near an oestrous female of which the vagina and vulva were treated daily with a solution of antibiotics. It is concluded that in the rat the bacterial flora of the vagina and vulva contributes to the production of sex attractants during oestrus.

In chapter 11 experiments are reported on the question whether male rats become attracted to castrated male rats which have been treated with oestradiol benzoate and progesterone. It appeared that adultly castrated male rats were attractive, albeit much less than oestrous females rats. However, neonatally castrated male rats -treated in adulthood with oestradiolbenzoate and progesterone- were as attractive as oestrous females.

Finally, the results of the experiments reported in this thesis can be summarized as follows. In the male rat testosterone activates its preference for an oestrous female rat. Oestradiol has the same effect as testosterone, while dihydrotestosterone is ineffective. There is no organization of this partner choice behaviour during the neonatal period by hormones produced by the testes: ovariectomized females as well

as neonatally castrated males showed a preference for an oestrous female, provided that they were treated (activated) with testosterone or oestradiol in adulthood.

The attractivity of a rat is activated by the synergistic action of oestradiol and progesterone. The presence of testes in the neonatal period has a negative effect on the attractivity in adulthood.

The attractivity of oestrous rats is partially determined by olfactory signals. Evidence suggests that the bacterial flora of vagina and vulva has a function in the production of these olfactory signals. The preputial glands were not found to be involved.

HOOFDSTUK 14

LITERATUUR

- Adams MG,
Odour-producing organs of mammals,
In: Stoddart DM (red), Olfaction in mammals, London:
Academic Press 1980:57-86.
- Alberts JR,
Producing and interpreting experimental olfactory deficits,
Physiol Behav 1974:12:657-670.
- Alberts JR & Galef BG,
Acute anosmia in the rat: a behavioral test of a
peripherally-induced olfactory deficit,
Physiol Behav 1971:6:619-621.
- Allen E, Francis BF, Robertson LL, Colgate CE, Johnson CG, Doisy
EA, Kountz WB & Gibson HV,
The hormone of the ovarian follicle: its localization and
action in test animals, and additional points bearing upon
the internal secretion of the ovary,
Am J Anat 1924:34:133-177.
- Aron C,
Mechanisms of control of the reproductive function by
olfactory stimuli in female mammals,
Physiol Rev 1979:59:229-284.
- Bardin CW & Catterall JF,
Testosterone: a major determinant of extragenital sexual
dimorphism,
Science 1981:211:1285-1294.
- Barfield RJ & Geyer LA,
Sexual behaviour: ultrasonic postejaculatory song of the
male rat,
Science 1972:176:1349-1350.
- Barfield RJ & Sachs BD,
Effect of shock on copulatory behavior in castrated male
rats,
Horm Behav 1970:1:247-253
- Barnett SA, Cockroft AL & Smart JL,
An artificial habitat for recording movement,
J Physiol 1966:187:15P-16P.
- Barnett SA & McEwan IM,
Movements of virgin, pregnant and lactating mice in a
residential maze,
Physiol Behav 1973:10:741-746.
- Barnett SA, Smart JL & Widdowson EM,
Early nutrition and the activity and feeding of rats in an
artificial environment,
Dev Psychobiol 1971:4:1-15.

- Bartke A, Steele RE, Musto N & Caldwell BV,
Fluctuations in plasma testosterone levels in adult male rats
and mice,
Endocrinology 1973:92:1223-1228.
- Baum MJ,
A comparison of the effects of methyltrienolone (R 1881) and
5 α -dihydrotestosterone on sexual behavior of castrated male
rats,
Horm Behav 1979a:13:165-174.
- Baum MJ,
Differentiation of coital behavior: a comparative analysis,
Neurosci Biobehav Rev 1979b:3:265-284
- Baum MJ, Södersten P & Vreeburg JTM,
Mounting and receptive behavior in the ovariectomized female
rat: influence of estradiol, dihydrotestosterone, and
genital anesthetization,
Horm Behav 1974:5:175-190.
- Baum MJ & Vreeburg JTM,
Copulation in castrated male rats following combined
treatment with estradiol and dihydrotestosterone,
Science 1973:182:283-285.
- Beach FA,
Sex reversals in the mating pattern of the rat,
J Genet Psychol 1938:53:329-334.
- Beach FA,
Analysis of the stimuli adequate to elicit mating behavior in
the sexually inexperienced male rat,
J comp Psychol 1942a:33:163-207.
- Beach FA,
Execution of the complete masculine copulatory pattern by
sexually receptive female rats,
J Genet Psychol 1942b:60:137-142.
- Beach FA,
Importance of progesterone to induction of sexual receptivity
in spayed female rats,
Proc Soc Exp Biol Med 1942c:51:369-371.
- Beach FA,
Bisexual mating behavior in the male rat: effects of
castration and hormone administration,
Zoology 1945:18:390-402.
- Beach FA,
Factors involved in the control of mounting behavior by
female mammals,
In: Diamond M (red), Perspectives in reproduction and sexual
behavior, Indiana: University Press 1968:83-131.
- Beach FA,
Hormonal factors controlling the differentiation,
development, and display of copulatory behavior in the
hamster and related species,
In: Tobach E, Aronson LR & Shaw E (red), The biopsychology
of development, New York: Academic Press 1971:249-296.
- Beach FA,
Behavioral endocrinology: an emerging discipline,
Am Scient 1975:63:178-187.

- Beach FA,
Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals,
Horm Behav 1976:7:105-138.
- Beach FA,
Historical origins of modern research on hormones and behavior,
Horm Behav 1981:15:325-376.
- Beach FA & Holz-Tucker AM,
Effects of different concentrations of androgen upon sexual behavior in castrated male rats,
J comp physiol Psychol 1949:42:433-453.
- Beach FA & Jordan L,
Effects of sexual reinforcement upon the performance of male rats in a straight runway,
J comp physiol Psychol 1956:49:105-110.
- Beach FA & LeBoeuf BJ,
Coital behaviour in dogs. I. Preferential mating in the bitch,
Anim Behav 1967:15:546-558.
- Beach FA, Noble RG & Orndoff RK,
Effects of perinatal androgen treatment on responses of male rats to gonadal hormones in adulthood,
J comp physiol Psychol 1969:68:490-497.
- Beach FA & Rasquin P,
Masculine copulatory behavior in intact and castrated female rats,
Endocrinology 1942:31:393-409.
- Beatty WW,
Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: organizational and activational influences,
Horm Behav 1979:12:112-163.
- Beaver DL,
A re-evaluation of the rat preputial gland as "dicrine" organ from the standpoint of its morphology, histochemistry and physiology,
J exp Zool 1960:143:153-173.
- Bellringer JF, Pratt HPM & Keverne EB,
Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice,
J Repr Fertil 1980:59:223-228.
- Berthold AA,
Transplantation der Hoden,
Arch Anat Physiol Wiss Med 1849:16:42-46.
- Beyer C, Morali G, Naftolin F, Larsson K & Perez-Palacios G,
Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats,
Horm Behav 1976:7:353-363.
- Bloch GJ & Davidson JM,
Effects of adrenalectomy and experience on postcastration sex behavior in the male rat,
Physiol Behav 1968:3:461-465.

- Boling JL & Blandau RJ,
The estrogen-progesterone induction of mating responses in
the spayed female rat,
Endocrinology 1959:25:359-364.
- Brand T & van Os L,
Prenatale androgenen en (jong) volwassen TP-geïnduceerd sex-
en keuzegedrag van vrouwelijke ratten,
Rotterdam: Keuzepracticumverslag, Afdeling Endocrinologie,
Groei en Voortplanting, Erasmus Universiteit Rotterdam 1982.
- Broere F, van der Schoot P & Slob AK,
Food conditioning, castration, testosterone administration
and sexual behavior in the male rat,
Physiol Behav 1985:35:627-629.
- Bronson FH,
Pheromonal influences on reproductive activities in rodents,
In: Birch MC (red), Pheromones, Amsterdam: North Holland
Publishing Compagny 1974:344-365.
- Bronson FH,
Serum FSH, LH and prolactin in adult ovariectomized mice
bearing silastic implants of oestradiol: responses to social
cues,
Biol Reprod 1976:15:147-152.
- Brown RE,
Hormonal control of odor preferences and urine-marking in
male and female rats,
Physiol Behav 1978:20:21-24.
- Bruce HM,
An extroceptive block to pregnancy in the mouse,
Nature 1959:184:105.
- Bruce HM,
Pheromones,
Br Med Bull 1970:26:10-13.
- Butcher RL, Collins WE & Fugo NW,
Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and
oestradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat,
Endocrinology 1974:94:1704-1708.
- Calhoun JB,
The ecology and sociology of the Norway rat,
Bethesda Maryland: U.S. Dept. of Health, Education and
Welfare, Public Health Service 1962:publ. no 1008.
- Carr WJ, Loeb LS & Dissinger ML,
Responses of rats to sex odors,
J comp physiol Psychol 1965:59:370-377.
- Carr WJ, Loeb LS & Wylie NR,
Responses to feminine odors in normal and castrated male
rats,
J comp physiol Psychol 1966:62:336-338.
- Champlin AK,
Suppression of oestrus in grouped mice: the effects of
various densities and the possible nature of the stimulus,
J Repr Fertil 1971:27:233-241.

- Cheal ML & Sprott RL,
Social olfaction: a review of the role of olfaction in a
variety of animal behaviors,
Psychol Rep 1971:29:195-243.
- Clark AS, Davis LA & Roy EJ,
A possible physiological basis for the dud-stud phenomenon,
Horm Behav 1985:19:227-230.
- Comfort A,
The likelihood of human pheromones,
In: Birch MC (red), Pheromones, Amsterdam: North Holland
Publishing Company 1974:386-396.
- Cowan PE,
The new object reaction of *Rattus rattus*: the relative
importance of various cues,
Behav Biol 1976:16:31-44.
- Cowan PE,
Neophobia and neophilia: New-object and new-place reactions
of three *rattus* species,
J comp physiol Psychol 1977a:91:63-71.
- Cowan PE,
Systematic patrolling and orderly behaviour of rats during
recovery from deprivation,
Anim Behav 1977b:25:171-184.
- Cowley JJ & Wise DR,
Pheromones, growth and behaviour,
In: Porter R & Birch J (red), Chemical influences on
behaviour, London: Churchill 1970:144-170.
- Craig W,
Appetites and aversions as constituents of instincts,
Biol Bull 1918:34:91-107.
- Damassa DA, Smith ER, Tennent B & Davidson JM,
The relationship between circulating testosterone levels and
male sexual behavior in rats,
Horm Behav 1977:8:275-286.
- Daniel WW,
Applied nonparametric statistics,
Boston: Houghton Mifflin 1978.
- David K, Dingemans E, Freud J & Laqueur E,
Ueber krystallinisches männliches Hormon aus Hoden
(Testosteron), wirksamer als aus Harn oder aus Cholesterin
bereitetes Androsteron,
Hoppe-Seyler's Z physiol Chem 1935:233:281-282.
- Davidson JM,
Characteristics of sex behaviour in male rats following
castration,
Anim Behav 1966:14:266-272.
- Dewsbury DA,
Copulatory behaviour of rats (*rattus norvegicus*) as a
function of prior copulatory experience,
Anim Behav 1969:17:217-223.

- Dewsbury DA,
Description of sexual behavior in research on
hormone-behavior interactions,
In: Beyer C (red), Endocrine control of sexual behavior, New
York: Raven Press 1979:3-32.
- Donohoe SM, Thody AJ & Shuster S,
Effect of α -melanocyte-stimulating hormone and ovarian
steroids on preputial gland function in the female rat,
J Endocrinol 1981:90:53-58.
- Doty RL, Snyder PJ, Huggins GR & Lowry LD,
Endocrine, cardiovascular and psychological correlates of
olfactory sensitivity changes during the human menstrual
cycle,
J comp physiol Psychol 1981:95:45-60.
- Douglass RJ,
Cues for spontaneous alternation,
J comp physiol Psychol 1966:62:171-183.
- Drewett RF & Spiteri NJ,
The sexual attractiveness of male rats: olfactory and
behavioral components,
Physiol Behav 1979:23:207-209.
- Eliasson M & Meyerson B,
Development of sociosexual approach behavior in male
laboratory rats,
J comp physiol Psychol 1981:95:160-165.
- Evans HL,
Rats' activity: influence of light-dark cycle, food
presentation and deprivation,
Physiol Behav 1971:7:455-459.
- Fadem BH & Barfield RJ,
Neonatal hormonal influences on the development of proceptive
and receptive feminine sexual behavior in rats,
Horm Behav 1981:15:282-288.
- Fadem BH, Barfield RJ & Whalen RE,
Dose-response and time-response relationships between
progesterone and the display of patterns of receptive and
proceptive behavior in the female rat,
Horm Behav 1979:13:40-48.
- Feder HH,
The comparative actions of testosterone propionate and 5 α -
androstan-17 β -ol-3-one propionate on the reproductive
behaviour, physiology and morphology of male rats,
Endocrinology 1971:51:241-252.
- Floody OR,
The hormonal control of ultrasonic communication in rodents,
Am Zool 1981:21:129-142.
- Frankel AI,
Hormone release during computer-monitored sexual behavior in
mature and aged male rats,
Horm Behav 1981:15:312-320.

- Gawienowski AM, Orsulak PJ, Stacewicz-Sapuntzakis M & Joseph BM,
Presence of sex pheromone in preputial glands of male rats,
J Endocrinol 1975;67:283-288.
- Gawienowski AM, Orsulak PJ, Stacewicz-Sapuntzakis M & Pratt JJ,
Attractant effect of female preputial gland extracts on the
male rat,
Psychoneuroendocrinology 1976;1:411-418.
- Gerall AA, Hendricks SE, Johnson LL & Bounds TW,
Effects of early castration in male rats on adult sexual
behavior,
J comp phys Psychol 1967;64:206-212.
- Geyer LA & Barfield RJ,
Influence of gonadal hormones and sexual behavior on
ultrasonic vocalisation in rats: treatment of females,
J comp physiol Psychol 1978;92:438-446.
- Geyer LA, McIntosh TK & Barfield RJ,
Effects of ultrasonic vocalisations and male's urine on
female rat readiness to mate,
J comp physiol Psychol 1978;92:457-462.
- Gilman DP & Westbrook WH,
Mating preference and sexual reinforcement in female rats,
Physiol Behav 1978;20:11-14.
- Glaser JH, Rubin BS & Barfield RJ,
Onset of the receptive and proceptive components of feminine
sexual behavior in rats following the intravenous
administration of progesterone,
Horm Behav 1983;17:18-27.
- Gogan F, Slama A, Bizzini-Koutznetzova B, Dray F & Kordon C,
Importance of perinatal testosterone in sexual
differentiation in the male rat,
J Endocrinol 1981;91:75-79.
- Goldfoot DA & Baum MJ,
Initiation of mating behavior in developing male rats
following peripheral electric shock,
Physiol Behav 1972;8:857-863.
- Goldfoot DA, Kravetz MA, Goy RW & Freeman SK,
Lack of effect of vaginal lavages and aliphatic acids on
ejaculatory responses in Rhesus monkeys: behavioral and
chemical analyses,
Horm Behav 1976;7:1-27.
- Goldfoot DA & Neff DA,
On measuring behavioral sex differences in social contexts.
In: Adler N, Pfaff D & Goy RW (red), Handbook of behavioral
neurobiology, vol 7, New York: Plenum Press, 1985.
- Goodman RL,
A quantitative analysis of the physiological role of
estradiol and progesterone in the control of tonic and surge
secretion of luteinizing hormone in the rat,
Endocrinology 1978;102:142-150.
- Goodwin M, Gooding KM & Regnier F,
Sex pheromone in the dog,
Science 1979;203:559-561.

- Gordon JW & Ruddle FH,
Mammalian gonadal determination and gametogenesis,
Science 1981:211:1265-1271.
- Gorski RA,
Sexual differentiation of brain structure in rodents,
In: Serio M, Motta M, Zanisi M & Martini L (red), Sexual
differentiation: basic and clinical aspects, New York:
Raven Press 1984:65-77.
- Goy RW & Goldfoot DA,
Hormonal influences on sexually dimorphic behavior,
In: Greep RO & Astwood EB (red), Handbook of physiology
section 7, volume II, part 1, Baltimore: Williams and
Wilkins Company 1973: 169-186.
- Goy RW & McEwen BS,
Sexual differentiation of the brain,
Cambridge: The MIT Press 1980.
- Gray GD, Smith ER & Davidson JM,
Hormonal regulation of penile erection in castrated male
rats,
Physiol Behav 1980:24:463-468.
- de Greef WJ & Merckx JAM,
Receptivity, proceptivity and attractivity of pregnant and
pseudopregnant rats,
Behav Brain Res 1982:4:203-208.
- Griffiths NM & Patterson RLS,
Human olfactory responses to 5 α -androst-16-en-3-one principal
component of boar taint,
J Sci Fd Agric 1970:21:4-6.
- ter Haar MB,
Circadian and estrual rhythms in food intake in the rat,
Horm Behav 1972:3:213-219.
- Harris GW & Levine S,
Sexual differentiation of the brain and its experimental
control,
J Physiol 1962:163:42p-43p.
- Harris GW & Levine S,
Sexual differentiation of the brain and its experimental
control,
J Physiol 1965:181:379-400.
- Hart BL,
Sexual reflexes and mating behavior in the male rat,
J comp phys Psychol 1968:65:453-460.
- Hart BL,
Sexual behavior and penile reflexes of neonatally castrated
male rats treated in infancy with estrogen and
dihydrotestosterone,
Horm Behav 1979:13:256-268.
- Hart BL, Wallach SJR & Melese-d'Hospital PY,
Differences in responsiveness to testosterone of penile
reflexes and copulatory behavior of male rats,
Horm Behav 1983:17:274-283.

- Haseltine FP & Ohno S,
Mechanism of gonadal differentiation,
Science 1981:211:1272-1278.
- Heimer L & Larsson K,
Mating behavior of male rats after olfactory bulb lesions,
Physiol Behav 1967:2:207-209.
- Herbert J,
Hormones and behaviour,
Proc R Soc Lond B 1977:199:425-443.
- Herbert J & Trimble MR,
Effect of oestradiol and testosterone on the sexual
receptivity and attractiveness of the female Rhesus monkey,
Nature 1967:216:165-166.
- Hetta J & Meyerson BJ,
Sexual motivation in the male rat,
Acta physiol scand 1978:suppl 453:1-68.
- Hill TE & Thomas TR,
The role of reinforcement in the sexual behavior of the
female rat,
Physiol Behav 1973:11:911-913.
- Hinde RA,
Ethology,
Oxford: Fontana Paperbacks 1982.
- Hlíňák Z & Madlafousek J,
The dependence of sexual behavior of inexperienced males on
precopulatory behavior of female albino rats,
Proc Czech Physiol Soc 1971:21:82.
- Hlíňák Z & Madlafousek J,
Estradiol treatment and precopulatory behavior in
ovariectomized female rats,
Physiol Behav 1981:26:171-176.
- Hlíňák Z, Madlafousek J & Mohapelová A,
Initiation of copulatory behavior in castrated male rats
injected with critically adjusted doses of testosterone,
Horm Behav 1979:13:9-20.
- Jenkins M,
The effect of segregation on the sex behavior of the white
rat as measured by the Columbia Obstruction Method,
Genet Psychol Monogr 1928:3:455-571.
- Jenkins TN, Warner LH & Warden CJ,
Standard apparatus for the study of animal motivation,
J comp Psychol 1926:6:361-382.
- de Jonge H,
Inleiding tot de medische statistiek deel I,
Leiden: Nederlands Instituut voor Praeventieve Geneeskunde
1958.
- de Jonge H,
Inleiding tot de medische statistiek deel II,
Leiden: Nederlands Instituut voor Praeventieve Geneeskunde
1960.

- de Jonge FH, Burger J, van Haaren F, Overdijk J & van de Poll NE,
The relevance of sexual experience for partner preference in
the female rat,
Behav Neurosci 1986: aangeboden ter publicatie.
- de Jonge FH, Burger J & van de Poll NE,
Acute effects of gonadal hormones on lordosis behavior of the
female rat,
Behav Brain Res 1986:20:57-62.
- de Jonge FH, Burger J & van de Poll NE,
Variable mounting levels in the female rat: the influence of
experience and acute effects of testosterone,
Behav Brain Res 1986:20:39-46.
- de Jonge FH, Eerland EMJ & van de Poll NE,
The influence of estrogen, testosterone and progesterone on
partner preference, receptivity and proceptivity,
Physiol Behav 1986: in druk.
- de Jonge FH, Meyerson BJ & van de Poll NE,
Attractivity of male and female rats which are homonally
manipulated during early development and in adulthood,
Horm Behav 1986: in druk.
- de Jonge FH & van de Poll NE,
Relationships between sexual and aggressive behavior in male
and female rats: effects of gonadal hormones,
In: de Vries GJ, de Bruin JPC, Uylings HBM & Corner MA
(red), Sex differences in the brain, Progress in Brain
Research 1984:61:283-302.
- de Jonge FH & van de Poll NE,
On the specific involvement of progesterone in sexually
rewarded choice behavior of the female rat,
Physiol Behav 1986:37:93-98.
- Jost A & Magre S,
Testicular development phases and dual hormonal control of
sexual organogenesis,
In: Serio M, Motta M, Zanisi M & Martini L (red), Sexual
differentiation: basic and clinical aspects, New York:
Raven Press 1984:1-15.
- Kagan J,
Differential reward value of incomplete and complete sexual
behavior,
J comp physiol Psychol 1955:48:59-64.
- Kamel F & Frankel AI,
Hormone release during mating in the male rat; time course,
relation to sexual behavior, and interaction with handling
procedures,
Endocrinology 1978:103:2172-2179.
- Karlson P & Butenandt A,
Pheromones (ectohormones) in insects,
A Rev Ent 1959:4:39-58.
- Keating RJ & Tcholakian RK,
In vivo patterns of circulating steroids in adult male rats.
I. Variations in testosterone during 24- and 48-hour
standard and reverse light/dark cycles,
Endocrinology 1979:104:184-188.

- Keverne EB,
Olfaction in the behaviour of non-human primates,
In: Stoddart DM (red), Olfaction in mammals, London:
Academic Press 1980: 313-327.
- Kirk RE,
Experimental design: procedures for the behavioral sciences,
Brooks/Cole, Belmont, CA, 1968.
- Kling A,
Effects of rhinencephalic lesions on endocrine and somatic
development in the rat,
Am J Physiol 1964:206:1395-1400.
- Koelega HS & Köster EP,
Some experiments on sex differences in odor perception,
Ann NY Acad Sci 1974:237:234-246.
- Koiter TR, Hazenberg MP & van der Schoot P,
Regulation of bacterial microflora of the vagina in cyclic
female rats,
J exp Zool 1977:202:121-127.
- Kwan M & Johnston RE,
The role of vaginal secretion in hamster sexual behavior:
males' responses to normal and vaginectomized females and
their odors,
J comp physiol Psychol 1980:94:905-913.
- Landau IT & Madden JE,
Hormonal regulation of female proceptivity and its influence
on male sexual preference in rats,
Physiol Behav 1983:31:679-685.
- Landauer MR, Wiese RE & Carr WJ,
Responses of sexually experienced and naive male rats to cues
from receptive vs. nonreceptive females,
Anim Learn Behav 1977:5:398-402.
- Langman J,
Inleiding tot de embryologie,
Utrecht: Oosthoek Uitgeversmaatschappij 1969:131-149.
- Larsson K,
Age differences in the diurnal periodicity of male sexual
behavior,
Gerontologia 1958:2:64-72.
- Larsson K,
Impaired mating performances in male rats after anosmia
induced peripherally or centrally,
Brain Behav Evol 1971:4:463-471.
- Larsson K,
Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual
behavior,
In: Beyer C (red), Endocrine control of sexual behavior, New
York: Raven Press 1979:77-163.
- Larsson K, Södersten P & Beyer C,
Sexual behavior in male rats treated with estrogen in
combination with dihydrotestosterone,
Horm Behav 1973:4:289-299.

- van der Lee S & Boot LM,
Spontaneous pseudopregnancy in mice I,
Acta physiol pharmac néerl 1955:4:442-444.
- van der Lee S & Boot LM,
Spontaneous pseudopregnancy in mice II,
Acta physiol pharmac néerl 1956:5:213-214.
- Lehrman DS,
Interaction between internal and external environments in the
regulation of the reproductive cycle of the ring dove,
In: Beach FA (red), Sex and Behavior, New York: Wiley:
1965:355-380.
- Le Magnen J,
Les phénomènes olfacto-sexuels chez l'homme,
Arch Sci Physiol 1952a:6:125-160.
- Le Magnen J,
Les phénomènes olfacto-sexuels chez le rat blanc,
Arch Sci Physiol 1952b:6:295-332.
- Leon M,
Maternal pheromone,
Physiol Behav 1974:13:441-453.
- Leon M & Behse JH,
Dissolution of the pheromonal bond: waning of approach
response by weanling rats,
Physiol Behav 1977:18:393-397.
- Leon M & Moltz H,
Maternal pheromone: discrimination by pre-weanling albino
rats,
Physiol Behav 1971:7:265-267.
- Leidahl LC & Moltz H,
Emission of the maternal pheromone in the nulliparous female
and failure of emission in the adult male,
Physiol Behav 1975:14:421-424.
- Leidahl LC & Moltz H,
Emission of the maternal pheromone in nulliparous and
lactating females,
Physiol Behav 1977:18:399-402.
- Lepré JJ, Wysocki CJ & Vandenbergh JG,
Mouse vomeronasal organ: effects on chemosignal production
and maternal behavior,
Physiol Behav 1985:35:809-814.
- Leshner AI,
An introduction to behavioral endocrinology,
Oxford: University Press 1978.
- Lodder J & Baum MJ,
Facilitation of mounting behavior by dihydrotestosterone
propionate in castrated estradiol benzoate-treated male rats
following pudendectomy,
Behav Biol 1977:20:141-148.
- Lodder J & Zeilmaker GH,
Effects of genital deafferentiation on mounting and
intromission behavior in spayed female rats treated with
estrogen,
Physiol Behav 1976a:16:753-755.

- Lodder J & Zeilmaker GH,
Effects of pelvic nerve and pudendal nerve transection on
mating behavior in the male rat,
Physiol Behav 1976b:16:745-751.
- Lomas DE & Keverne EB,
Role of the vomeronasal organ and prolactin in the
acceleration of puberty in female mice,
J Repr Fertil 1982:66:101-107.
- Long JA & Evans HM,
The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena,
Memoirs of the University of California 1922:6:1-148.
- Lorenz K,
Ueber die Bildung des Instinktbegriffs,
Naturwissenschaften 1937:25:289-300; 1937:25:307-318;
1937:25:324-331.
- Lucas PD, Donohoe SM & Thody AJ,
The role of estrogen and progesterone in the control of
preputial gland sex attractant odors in the female rat,
Physiol Behav 1982:28:601-607.
- Lumia AR, Meisel RL & Sachs BD,
Induction of female and male mating patterns in female rats
by gonadal steroids: effects of neonatal or adult olfactory
bulbectomy,
J comp physiol Psychol 1981:95:497-511.
- Lydell K & Doty RL,
Male odor preferences for female urine as a function of
sexual experience, urine age, and urine source,
Horm Behav 1972:3:205-212.
- Madlafousek J, Hlinák Z & Beran J,
Decline of sexual behavior in castrated male rats: effects
of female precopulatory behavior,
Horm Behav 1976:7:245-252.
- Malmnäs CO,
Monoaminergic influence on testosterone-activated copulatory
behavior in the castrated male rat,
Acta physiol scand 1973:suppl 395:1-128.
- Malmnäs CO,
Short-latency effect of testosterone on copulatory behaviour
and ejaculation in sexually experienced intact male rats,
J Repr Fertil 1977:51:351-354.
- van Marle GAJS,
Parthenogenese,
Rotterdam: proefschrift 1983.
- Marler P,
Animal communication signals,
Science 1967:157:769-774.
- Martin JR & Bättig K,
Exploratory behaviour of rats at oestrus,
Anim Behav 1980:28:900-905.

- Martini L,
The 5 α -reduction of testosterone in the neuroendocrine structures. Biochemical and physiological implications, Endocr Rev 1982:3:1-25.
- McClintock MK & Anisko JJ,
Group mating among Norway rats I. Sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation, Anim Behav 1982:30:398-409.
- McClintock MK, Anisko JJ & Adler NT,
Group mating among Norway rats II. The social dynamics of copulation: competition, cooperation and mate choice, Anim Behav 1982:30:410-425.
- McDonald P, Beyer C, Newton F, Brien B, Baker R, Tan HS, Sampson C, Kitching P, Greenhill R & Pritchard D,
Failure of 5 α -dihydrotestosterone to initiate sexual behaviour in the castrated male rat, Nature 1970:227:964-965.
- McDonald PG & Doughty C,
Comparison of the effect of neonatal administration of testosterone and dihydrotestosterone in the female rat. J Repr Fertil 1972:30:55-62.
- McIntosh TK, Barfield RJ & Geyer LA,
Ultrasonic vocalisations facilitate sexual behaviour of female rats, Nature 1978:272:163-164.
- Means LW, Hardy WT, Gabriël M & Uphold JD,
Utilization of odor trials by rats in maze learning, J comp physiol Psychol 1971:76:160-164.
- Medvei VC,
A history of endocrinology, Lancaster: MPT Press Ltd 1982:217-218.
- Meisel RL, Lumia AR & Sachs BD,
Effects of olfactory bulb removal and flank shock on copulation in male rats, Physiol Behav 1980:25:383-387.
- Meisel RL, O'Hanlon JK & Sachs BD,
Differential maintenance of penile responses and copulatory behavior by gonadal hormones in castrated male rats, Horm Behav 1984:18:56-64.
- Melby EC & Altman NH,
Handbook of laboratory animal science, Cleveland, Ohio: CRC Press 1976: vol III: 88-90.
- Meyerson BJ, Eliasson M & Hetta J,
Sex-specific orientation in female and male rats: development and effects of early endocrine manipulation, Adv Biosci 1979:25:451-460.
- Meyerson BJ & Lindström LH,
Sexual motivation in the female rat, Acta physiol scand 1973:suppl 389:1-79.
- Meyerson BJ, Lindström L, Nordström E-B & Ågmo A,
Sexual motivation in the female rat after testosterone treatment, Physiol Behav 1973:11:421-428.

- Meys-Roelofs HMA, Uilenbroek JThJ, de Greef WJ, de Jong FH & Kramer P.
Gonadotrophin and steroid levels around the time of first ovulation in the rat.
J Endocrin 1975:67:275-282.
- Michael RP, Keverne EB & Bonsall RW,
Pheromones: isolation of male sex attractants from a female primate,
Science 1971:172:964-966.
- Michael RP, Saayman GS & Zumpe D,
Sexual attractiveness and receptivity in Rhesus monkeys,
Nature 1967:215:554-556.
- Milligan SR,
Pheromones and rodent reproductive physiology,
In: Stoddart DM (red), *Olfaction in mammals*, London: Academic Press 1980:251-275.
- Mock EJ, Norton HW & Frankel AI,
Daily rhythmicity of serum testosterone concentration in the male laboratory rat,
Endocrinology 1978:103:1111-1121.
- Moore CR,
On the physiological properties of the gonads as controllers of somatic and physical characteristics I: The rat,
J exp Zool 1919:28:137-160.
- Morali G, Larsson K & Beyer C,
Inhibition of testosterone-induced sexual behavior in the castrated male rat by aromatase blockers,
Horm Behav 1977:9:203-213.
- Moss FA,
A study of animal drives,
J exp Psychol 1924:7:165-185.
- Naftolin F, Ryan KJ, Davies IJ, Reddy VV, Flores F, Petro Z, Kuhn M, White RJ, Takaoka Y & Wolin L,
The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues,
Rec Prog Horm Res 1975:31:295-319.
- Nissen HW,
The effects of gonadectomy, vasotomy, and injections of placental and orchic extracts on the sex behavior of the white rat,
Genet Psychol Monogr 1929:5:451-549.
- Noble RL & Collip JB,
A possible direct control of the preputial glands of the female rat by the pituitary gland and indirect effects produced through the adrenals and gonads by augmented pituitary extracts,
Endocrinology 1941:29:943-951.
- O'Connell RJ, Singer AG, Macrides F, Pfaffmann C & Agosta WC,
Responses of the male golden hamster to mixtures of odorants identified from vaginal discharge,
Behav Biol 1978:24:244-255.

- Ohno S, Epplen JT & Cellini A,
Evolutionary conserved sex-specific repeats their transcripts
and H-Y antigen.
In: Serio M, Motta M, Zanisi M & Martini L (red), Sexual
differentiation: Basic and clinical aspects, New York:
Raven Press 1984:17-31.
- Olsen KL & Whalen RE,
Dihydrotestosterone activates male mating behavior in
castrated King-Holtzman rats,
Horm Behav 1984:18:380-392.
- Orsulak PJ & Gawienowski AM,
Olfactory preferences for the rat preputial gland,
Biol Reprod 1972:6:219-223.
- Orbach J & Kling A,
Effect of sensory deprivation on onset of puberty, mating,
fertility and gonadal weights in rats,
Brain Res 1966:3:141-149.
- Parkes AS & Bruce HM,
Olfactory stimuli in mammalian reproduction,
Science 1961:134:1049-1054.
- Parrot RF,
Effect of castration on sexual arousal in the rat, determined
from records of post-ejaculatory ultrasonic vocalisations,
Physiol Behav 1976:16:689-692.
- Parsons B, MacLusky NJ, Krey L, Pfaff DW & McEwen BS,
The temporal relationship between estrogen-inducible
progesterin receptors in the female rat brain and the time
course of estrogen activation of mating behavior,
Endocrinology 1980:107:774-779.
- Paup DC, Mennin SP & Gorski RA,
Androgen- and estrogen-induced copulatory behavior and
inhibition of luteinizing hormone (LH) secretion in the male
rat,
Horm Behav 1975:6:35-46.
- Peacock LJ, Hodge MH & Thomas RK,
Ultrasonic measurement and automatic analysis of general
activity in the rat,
J comp physiol Psychol 1966:62:284-288.
- Pelt FL,
The effects of neonatal treatment with methylthiouracil and
triiodothyronine on physical and behavioural development,
Rotterdam: proefschrift 1972.
- Perkins MS, Perkins MN & Hitt JC,
Effects of stimulus female on sexual behavior of male rats
given olfactory tubercle and corticomedial amygdaloid
lesions,
Physiol Behav 1980:25:495-500.
- Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA & Young WC,
Organizing action of prenatally administered testosterone
propionate on the tissues mediating mating behavior in the
female guinea pig,
Endocrinology 1959:65:369-382.

- Phoenix CH, Goy RW & Resko JA,
Psychosexual differentiation as a function of androgenic stimulation.
In: Diamond M (red): Perspectives in reproduction and sexual behavior, Bloomington: Indiana Press 1968:33-49.
- Pietras RJ,
Sex pheromone production by preputial gland: the regulatory role of estrogen,
Chem Senses 1981:6:391-408.
- van de Poll NE & van Dis H,
Hormone induced lordosis and its relation to masculine sexual activity in male rats,
Horm Behav 1977:8:1-7.
- van de Poll NE, van der Zwan SM, van Oyen HG & Pater JH,
Sexual behavior in female rats born in all-female litters,
Behav Brain Res 1982:4:103-109.
- Purvis K, Cooper KJ & Haynes NB,
The influence of male proximity and dietary restriction on the oestrous cycle of the rat,
J Repr Fertil 1971:27:167-176.
- Purvis K & Haynes NB,
Effect of the odour of female rat urine on plasma testosterone concentrations in male rats,
J Repr Fertil 1978:53:63-65.
- Raisman G & Field PM,
Sexual dimorphism in the preoptic area of the rat,
Science 1971:173:731-733.
- Richmond G & Sachs BD,
Further evidence for masculinization of female rats by males located caudally in utero,
Horm Behav 1984:18:484-490.
- Richter CP,
Dependence of successful mating in rats on functioning of the 24-hour clocks of the male and female,
Commun Behav Biol 1970:5:1-5.
- Richter CP,
Inborn nature of rat's 24-hour clock,
J comp physiol Psychol 1971:75:1-4.
- Russell PA,
Sex differences in rats' stationary exploration as a function of stimulus and environmental novelty,
Anim Learn Behav 1977:5:297-302.
- Sachs BD & Barfield RJ,
Functional analysis of masculine copulatory behavior in the rat,
In: Rosenblatt JS, Hinde RA, Shaw E & Beer CG (red), Advances in the study of behavior, New York: Academic Press 1977:vol VII:91-154.
- Sachs BD & Thomas DA,
Differential effects of perinatal androgen treatment on sexually dimorphic characteristics in rats,
Physiol Behav 1985:34:735-742.

- Sales G & Pye J,
Ultrasonic communication by animals.
London: Chapman & Hall 1974:149-201.
- Schaeffer Ch & Aron Cl,
Studies on feminine sexual behavior in the male rat:
influence of olfactory stimuli,
Horm Behav 1981:15:377-385.
- Schaeffer C, Roos J & Aron C,
Accessory olfactory bulb lesions and lordosis behavior in the
male rat feminized with ovarian hormones,
Horm Behav 1986:20:118-127.
- Schenck PE, van de Giessen H, Slob AK & van der Werff ten Bosch
JJ,
An automated device for measuring locomotor activity in rats,
Behav Res Meth & Instr 1978:10:552-556.
- Schenck PE, Slob AK & van der Werff ten Bosch JJ,
Locomotor activity and social behavior of old rats after
preweaning undernutrition,
Dev Psychobiol 1978:11:205-212.
- Schinkel PG,
The effect of the presence of the ram on the ovarian activity
of the ewe,
Aust J agric Res 1954:5:465.
- van der Schoot P,
Effects of dihydrotestosterone and oestradiol on sexual
differentiation in male rats,
J Endocrinol 1980:84:397-407.
- van der Schoot P & Hazenberg M,
What causes leucocyte invasion of the vaginal epithelium in
rats at metoestrus,
J Endocrinol 1975:64:40p.
- van der Schoot P & Zeilmaker GH,
Aspects of function of ovarian grafts in neonatally castrated
male rats,
Endocrinology 1972:91:389-395.
- Sewell GD,
Ultrasonic signals from rodents,
Ultrasonics 1970:8:26-30.
- Sheffield FD, Wulff JJ & Backer R,
Reward value of copulation without sex drive reduction,
J comp physiol Psychol 1951:44:3-8.
- Siegel PS & Stuckey HL,
The diurnal course of water and food intake in the normal
mature rat,
J comp physiol Psychol 1947:40:365-370.
- Slob AK,
Perinatal endocrine and nutritional factors controlling
physical and behavioural development in the rat,
Rotterdam: proefschrift 1972.
- Slob AK, Bogers H & van Stolk MA,
Effects of gonadectomy and exogenous gonadal steroids on sex
differences in open field behaviour of adult rats,
Behav Brain Res 1981:2:347-362.

- Slob AK, van Es G & van der Werff ten Bosch JJ,
Social factors and puberty in female rats,
J Endocrinol 1985;104:309-313.
- Slob AK, Ooms MP & Vreeburg JTM,
Sex ratio in utero and plasma concentration of testosterone
in male and female rat fetuses,
J Endocrinol 1978;79:395-396.
- Slob AK, Ooms MP & Vreeburg JTM,
Prenatal and early postnatal sex differences in plasma and
gonadal testosterone and plasma luteinizing hormone in female
and male rats,
J Endocrinol 1980;87:81-87.
- Slob AK & van der Schoot P,
Testosterone induced mounting behavior in adult female rats
born in litters of different female to male ratios,
Physiol Behav 1982;28:1007-1010.
- Slob AK, Snow CE & de Natris-Mathot E,
Absence of behavioral deficits following neonatal
undernutrition in the rat,
Dev Psychobiol 1973;6:177-186.
- Slob AK & Vreeburg JTM,
Prenatal androgens in female rats and adult mounting
behaviour,
In: Gilles R & Balthazart J (red), Neurobiology, Heidelberg:
Springer Verlag Berlin 1985:165-179.
- Slonaker JR,
The effect of pubescence, oestruation and menopause on the
voluntary activity in the albino rat,
Am J Physiol 1925;71:294-315.
- Södersten P,
Mounting behavior in the female rat during the oestrous
cycle, after ovariectomy and after estrogen or testosterone
administration,
Horm Behav 1972;3:307-320.
- Södersten P,
Estrogen-activated sexual behavior in male rats,
Horm Behav 1973a;4:247-256.
- Södersten P,
Increased mounting behavior in the female rat following a
single neonatal injection of testosterone propionate,
Horm Behav 1973b;4:1-17.
- Södersten P & Eneroth P,
Serum levels of oestradiol-17 β and progesterone in relation
to sexual receptivity in intact and ovariectomized rats,
J Endocrinol 1981;89:45-54.
- Södersten P, Eneroth P & Ekberg P-H,
Episodic fluctuations in concentrations of androgen in serum
of male rats: possible relationship to sexual behaviour,
J Endocrinol 1980;87:463-471.
- Södersten P & Gustafsson J-Å,
A way in which estradiol might play a role in the sexual
behavior of male rats,
Horm Behav 1980;14:271-274.

- Södersten P & Hansen S,
Effect of castration and testosterone, dihydrotestosterone or oestradiol replacement treatment in neonatal rats on mounting behaviour in the adult,
J Endocrinol 1978;76:251-260.
- Södersten P, Hansen S, Eneroth P, Wilson CA & Gustafsson J-Å,
Testosterone in the control of rat sexual behavior,
J Steroid Biochem 1980;12:337-346.
- Södersten P, de Jong FH, Vreeburg JTM & Baum MJ,
Lordosis behavior in intact male rats: absence of correlation with mounting behavior or testicular secretion of estradiol-17 β and testosterone,
Physiol Behav 1974;13:803-808.
- Södersten P & Larsson K,
Lordosis behavior and mounting behavior in male rats: effects of castration and treatment with estradiol benzoate or testosterone propionate,
Physiol Behav 1975;14:159-164.
- Stefanick ML,
The circadian patterns of spontaneous seminal emission, sexual activity and penile reflexes in the rat,
Physiol Behav 1983;31:737-743.
- Steinach E,
Untersuchungen zur vergleichenden Physiologie der männlichen Geschlechtsorgane insbesondere der accessorischen Geschlechtsdrüsen,
Pflügers Arch ges Physiol 1894;56:304-338.
- Stern JJ,
Responses of male rats to sex odors,
Physiol Behav 1970;5:519-524.
- Stone CP,
Sex drive,
In: Allen E, Danforth CH & Doisy EA (red), Sex and internal secretions, Baltimore: Williams & Wilkins 1939:1213-1263.
- Stone CP & Ferguson LW,
Temporal relationships in the copulatory acts of adult male rats,
J comp Psychol 1940;30:419-433.
- Swanson HE & van der Werff ten Bosch JJ,
The "early-androgen"-syndrome: effects of prenatal testosterone propionate,
Acta Endocrinol (Copenh) 1965;50:379-390.
- Taylor GT, Haller J & Regan D,
Female rats prefer an area vacated by a high testosterone male,
Physiol Behav 1982;28:953-958.
- Taylor GT, Regan D & Haller J,
Sexual experience, androgens and female choice of a mate in laboratory rats,
J Endocrinol 1983;96:43-52.

- Taylor GT, Weiss J & Rupich R,
Suprathreshold manipulations of testosterone and reproductive
functioning in gonadally intact sexually experienced and
inexperienced male rats,
Physiol Behav 1985:35:735-739.
- Tennent BJ, Smith ER & Davidson JM,
The effects of estrogen and progesterone on female rat
proceptive behavior,
Horm Behav 1980:14:65-75.
- Thody AJ, Cooper MF, Bowden PE, Meddis D & Shuster S,
Effect of α -melanocyte-stimulating hormone and testosterone
on cutaneous and modified sebaceous glands in the rat,
J Endocrinol 1976:71:279-288.
- Thody AJ, Donohoe SM & Shuster S,
 α -melanocyte-stimulating hormone and the release of sex
attractant odors in the female rat,
Peptides 1981:2:125-129.
- Thody AJ & Dijkstra H,
Effect of ovarian steroids on preputial gland odours in the
female rat,
J Endocrinol 1978:77:397-403.
- Thomas DA, Barfield RJ & Etgen AM,
Influence of androgen on the development of sexual behavior
in rats. I. Time of administration and masculine copulatory
responses, penile reflexes, and androgen receptors in
females,
Horm Behav 1982:16:443-454.
- Thomas DA, Howard SB & Barfield RJ,
Male-produced ultrasonic vocalisations and mating patterns in
female rats,
J comp physiol Psychol 1982:96:807-815.
- Thomas DA, Howard SB & Barfield RJ,
Influence of androgen on the development of sexual behavior
in the rat. II. Time and dosage of androgen administration
during the neonatal period and masculine and feminine
copulatory behavior in females,
Horm Behav 1983:17:308-315.
- Thomas DA, McIntosh TK & Barfield RJ,
Influence of androgen in the neonatal period on ejaculatory
and postejaculatory behavior in the rat,
Horm Behav 1980:14:153-162.
- Thomas DA, Talalas L & Barfield RJ,
Effect of devocalisation of the male on mating behavior in
rats,
J comp physiol Psychol 1981:95:630-637.
- Thor DH,
Gonadal testosterone and perineal sniffing behavior of the
male rat,
Behav Biol 1978:24:256-264.
- Thor DH,
Testosterone and persistence of social investigation in
laboratory rats,
J comp physiol Psychol 1980:94:970-976.

- Thor DH & Flannelly KJ,
Social-olfactory experience and initiation of copulation in
the virgin male rat,
Physiol Behav 1977:19:411-417.
- Thor DH & Flannelly KJ,
Sex-eliciting behavior of the female rat: discrimination of
receptivity by anosmic and intact males,
Behav Biol 1978:23:326-340.
- Thor DH, Wainwright KL & Holloway WR,
Persistence of attention to a novel conspecific: some
developmental variables in laboratory rats,
Dev Psychobiol 1982:15:1-8.
- Timmermans PJA,
Social behaviour in the rat,
Nijmegen: proefschrift 1978.
- Tinbergen N,
The Herring Gull's World,
London: Collins 1953.
- Tinbergen N,
Ethology,
In: Harré R (red), Scientific thought 1900-1960. Oxford:
Clarendon Press 1969: 238-258.
- van Twyver H,
Sleep patterns of five rodent species,
Physiol Behav 1969:4:901-905.
- Vandenbergh JG,
Acceleration of sexual maturation in female rats by male
stimulation,
J Repr Fertil 1976:46:451-453.
- Vandenbergh JG,
Pheromonal regulation of puberty,
In: Vandenbergh JG (red), Pheromones and reproduction in
mammals, London: Academic Press 1983a:95-112.
- Vandenbergh JG,
Social factors controlling puberty in the female mouse,
In: Balthazart J, Pröve E & Gilles R (red), Hormones and
behaviour in higher vertebrates, Berlin, Heidelberg:
Springer Verlag 1983b:342-349.
- Vandenbergh JG, Whitsett JM & Lombardi JR,
Partial isolation of a pheromone accelerating puberty in
female mice,
J Repr Fertil 1975:43:515-523.
- Vreeburg JTM & Ooms MP,
Induction of earwiggling in the oestrous female rat by
gonadectomized rats treated with androgens and estrogens,
Horm Behav 1985:19:231-236.
- Vreeburg JTM, van der Vaart PDM & van der Schoot P,
Prevention of central defeminization but not masculinization
in male rats by inhibition neonatally of oestrogen
biosynthesis,
J Endocrinol 1977:74:375-382.

- Wang GH,
The relation between "spontaneous" activity and the oestrous cycle in the white rat,
Comp Psychol Monogr 1923:6:1-27.
- Ward IL,
Differential effect of pre- and postnatal androgen on the sexual behavior of intact and spayed female rats,
Horm Behav 1969:1:25-36.
- Warden CJ,
Animal motivation studies: the albino rat,
New York, Colombia 1931.
- Warner LH,
A study of sex behavior in the white rat by means of the obstruction method,
Comp Psychol Monogr 1927:4:1-58.
- Weisz J & Ward IL,
Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses and neonatal offspring,
Endocrinology 1980:106:306-316.
- West CD, Hollander VP, Kritchevski TH & Dobriner K,
The isolation and identification of testosterone, Δ^4 -adrostenedione, and 7-ketocholesterol from spermatic vein blood,
J clin Endocr Metab 1952:12:915.
- Whalen RE,
Effects of mounting without intromission and intromission without ejaculation on sexual behavior and maze learning,
J comp physiol Psychol 1960:54:409-415
- Whalen RE,
Estrogen-progesterone induction of mating in female rats,
Horm Behav 1974:5:157-162.
- Whalen RE, Gladue BA & Olsen KL,
Lordotic behavior in male rats: genetic and hormonal regulation of sexual differentiation,
Horm Behav 1986:20:73-82.
- Whalen RE & Olsen KL,
Role of aromatization in sexual differentiation: effects of prenatal ATD treatment and neonatal castration,
Horm Behav 1981:15:107-122.
- Whitten WK,
Modifications of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with the male,
J Endocrinol 1956:13:399-404.
- Whitten WK,
Modifications of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with the male. Changes in the oestrous cycle determined by vaginal smears,
J Endocrinol 1958:17:303-313.
- Whitten WK & Champlin AK,
The role of olfaction in mammalian reproduction,
In: Greep RO & Astwood EB (red), Handbook of physiology, section 7, volume II, part 1, Baltimore: Williams and Wilkins Company 1973: 109-123.

- Wilhelmsson M & Larsson K,
The development of sexual behavior in anosmic male rats
reared under various social conditions,
Physiol Behav 1973:11:227-232.
- Wilson JD, George FW & Griffin JE,
The hormonal control of sexual development,
Science 1981:211:1278-1284.
- Yahr P,
Data and hypotheses in tales of dihydrotestosterone,
Horm Behav 1979:13:92-96.
- Young WC,
The hormones and mating behavior,
In Young WC: Sex and internal secretions, Baltimore:
William & Wilkins 1961:vol II:1173-1239.
- Zemlan FP & Adler NT,
Hormonal control of female sexual behavior in the rat,
Horm Behav 1977:9:345-357.
- Zucker I,
Light-dark rhythms in rat eating and drinking behavior,
Physiol Behav 1971:6:115-126.

DANKWOORD

Nu de uiteindelijke versie van dit proefschrift gereed is wil ik allen danken die bij de uitvoering van de experimenten en bij de totstandkoming van dit proefschrift betrokken zijn geweest.

In de eerste plaats gaat mijn dank uit naar Koos van der Werff ten Bosch die mij de ruimte en vrijheid heeft geboden om onderzoek te leren verrichten. Met plezier denk ik terug aan de werkbesprekingen en aan de wijze waarop eerdere versies van dit proefschrift van commentaar werden voorzien.

Het enthousiasme waarmee Koos Slob zelfs de meeste slechte versies van het manuscript doorlas en van commentaar voorzag, heb ik zeer gewaardeerd. Het commentaar leverde een bijdrage aan de inhoud van het proefschrift, terwijl het enthousiasme het humeur van de promovendus op peil hield.

In 1973 haalde Prof dr HG van Eyk tijdens mijn allereerste college aan de Erasmus Universiteit het doek van het academisch toneel op. Ik stel het op prijs om Prof dr HG van Eyk ook nu weer tegen over me te treffen.

Prof dr MW van Hof en Prof dr EP Köster dank ik voor het kritisch doorlezen van het manuscript.

Bij het uitvoeren van de experimenten heb ik veel steun gehad van Frits Vels die -vooral tijdens mijn afwezigheid- de operaties en injecties van de proefdieren verzorgde.

Paula van der Vaart en Pieter van der Schoot verrichtten de neonatale castraties van de proefdieren.

Het is gebleken dat er aan de kruiskooi andere mankementen konden optreden dan doorgebeten kabeltjes of kapotte lampjes. Gelukkig stond Henk van der Giessen dan altijd klaar om deze technische problemen snel te verhelpen.

De gaatjes in de meters ponsband werden dankzij programmatuur

van Peter Schenck omgezet in iets beter hanteerbare bladzijden vol met cijfertjes.

Marja Ooms en Peter Woutersen verrichtten de hormoonbepalingen.

Ik heb bewondering voor de wijze waarop Hans Kneefel van het Audiovisuele Centrum van de Erasmus Universiteit keurige grafieken en histogrammen wist te destilleren uit mijn kladjes en werktekeningen.

Betty Detmar-van Daalen maakte -na het lezen van een klein gedeelte van het manuscript- de tekening voor de kaft, terwijl Floor Voermans de uiteindelijke lay-out vervaardigde.

Met een rood potlood haalde Anneke Bot uit de bijna definitieve versie taal- en spellingsfouten; bovendien maakte zij met de tekstverwerker de tabellen.

Nico de Kleijn stond me met raad en daad terzijde bij de lay-out van de tekst.

De directie van het Nederlands Instituut voor Preventieve Gezondheidszorg/TNO stelde de huisdrukkerij beschikbaar voor de vermenigvuldiging van dit proefschrift. De heren JN Kampenhout, J van der Plas en JJ van der Zwan droegen er zorg voor dat dit proefschrift op tijd in deze vorm gereed was.

Frank Broere dank ik voor het kritisch doorlezen van eerdere versies.

De steun die Monique me gegeven heeft bij het schrijven is moeilijk onder woorden te brengen. Zonder haar morele en emotionele steun was dit proefschrift niet verschenen. Bovendien heeft zij alle versies -van zeer voorlopig tot bijna definitief- doorgelezen en van commentaar voorzien.

Oostvoorne,

23 juli 1986

CURRICULUM VITAE

De auteur van dit proefschrift werd geboren op 28 februari 1955 te 's-Hertogenbosch. Aan het st. Janslyceum aldaar werd in 1973 het diploma Gymnasium 8 behaald. In dat zelfde jaar werd aan de Erasmus Universiteit een aanvang gemaakt met de studie Geneeskunde, die in 1980 werd afgesloten met het artsexamen.

Van oktober 1975 tot juli 1978 was de auteur als student assistent werkzaam bij de afdeling Endocrinologie, Groei en Voortplanting, en van april 1976 tot april 1978 als student assistent bij de afdeling Pathologische Anatomie II. Een deel van de experimenten die in dit proefschrift beschreven zijn werden verricht in de periode van februari 1980 tot februari 1982, toen de auteur werkzaam was als wetenschappelijk assistent bij de afdeling Endocrinologie, Groei en Voortplanting.

Van 1980 tot 1985 was de auteur in dienst als consultatiebureau-arts voor kleuters en zuigelingen bij de Stichting Samenwerkende Rotterdamse Kruisverenigingen en bij het Groene Kruis te Den Haag.

Vanaf januari 1986 is de auteur werkzaam als wetenschappelijk onderzoeker op de afdeling Neurofysiologie van het Nederlands Instituut voor Preventieve Gezondheidszorg/TNO te Leiden.

HUISDRUKKERIJ NIPG-TNO