



**“Estacionalidad reproductiva en machos de venado de campo  
(*Ozotoceros bezoarticus*) adultos y juveniles”**

**Solana González**

**Tutor: Rodolfo Ungerfeld  
Co-Tutor: Alejandro Bielli**

**PEDECIBA Biología  
Opción Ciencias Fisiológicas**

**2011**

# Dedicatoria

A mi padre y hermana,  
que me enseñaron lo más valioso de la vida...  
a ser libre!

## Agradecimientos

A Rodolfo Ungerfeld, por enseñarme este camino.

A Alejandro Bielli, por aceptar ser mi cotutor y sus aportes al trabajo.

A Lucía Delbene, por realizar los muestreos de comportamiento.

A todos los que participaron en los muestreos y la discusión de los resultados: Carmen Rossini, Pedro Martino, Fernando Fumagalli, Marcela Canabal, Tatiana Morales, Leticia de la Fuente, Natalie Citon, Adrián Sestelo, Jorge Gil, César Savignone, Miguel Coloma, Juan Pablo Damián, Helen Viotti, Giannina Ocasberro, Belén Ceballos, Florencia Beracochea, Pedro Claudino.

A Marita Araújo, Directora General de Higiene y Medio Ambiente de la IMM, por apoyarnos desde el comienzo. A todo el personal de la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (ECFA) involucrado en el trabajo: Dr. Edgardo Barrios, Sr. Ricardo Sorelo y Sr. Jhonny Brioso. Muy especialmente al Sr. Tabaré González, director de la ECFA por apoyar y creer en este proyecto desde el principio.

A la CSIC y la Intendencia Municipal de Maldonado, por cofinanciar el proyecto “Biología reproductiva del venado de campo”.

A la ANII, por otorgarme una beca para poder realizar con tranquilidad mis estudios.

A todos los estudiantes de grado y posgrado del laboratorio de Fisiología de la Reproducción, muy especialmente a Marcelo Gatti y Carolina Fiol.

A los que me permitieron realizar pasantías: Dr. Julián Garde y Dr. Julián Santiago, y sus equipos por abrirme las puertas de sus laboratorios. A Mario Beade y Lorena Perez Carusi por mostrarme su trabajo con los venados en Campos del Tuyú. A Gustavo Aprile por dejarme caminar junto a él en los senderos de los huemules.

A Matías Villagrán, por ser un compañero y amigo, en el trabajo y en la vida.

A Lorena Lacuesta y Patricia Mondelli, por ser amigas y hermanas.

A mis amigos del alma: Sheila, Caro, Gabriela, Carlos, Pitu, Virginia, Marcela, Gastón, que siempre están. A Sebastián y Nacha por mostrarme que la sutileza, la sensibilidad y el amor son indispensables para creer y crear.

A mi padre y hermana, los amo!

A todos los que defienden sus sueños, son una fuente de inspiración.

A todos gracias!

## Resumen

El objetivo general de la tesis fue describir la estacionalidad reproductiva en machos adultos y juveniles de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en semicautiverio mantenidos con alimentación homogénea a lo largo del año. Los objetivos específicos fueron determinar la variación estacional de las medidas corporales (peso, perímetro de cuello, altura a la cruz), dimensiones testiculares (circunferencia escrotal, volumen testicular), el índice gonadosomático, las características seminales (calidad seminal, cantidad de espermatozoides por eyaculado, motilidad espermática progresiva e individual, espermatozoides vivos, normales y con integridad acrosómica), fecha de caída de astas, concentración sérica de testosterona, concentración sérica de CK, FAS, fósforo, calcio, magnesio y colesterol, y frecuencia de comportamientos agonistas y de marcación. El trabajo se realizó con animales de la población de venados de campo de la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (Piriápolis, Uruguay). Los animales se encontraban en un régimen de semicautiverio, con acceso a pasturas y arbustos y suplementados diariamente con ración. Se utilizaron dos grupos de 6 machos, uno de adultos (mayores de 5 años) y otro de juveniles (1,5 a 2 años). Se realizaron mediciones morfométricas, y muestreos sanguíneos y de semen en forma estacional desde el otoño de 2008 al otoño de 2009. Los muestreos fueron realizados bajo anestesia general, y el semen fue obtenido por electroeyaculación. La fecha de caída de las astas se registró desde el 1 de julio a la fecha de caída de la primer asta. Durante todo el año se realizaron registros semanales de comportamientos agonistas y de marcación. Todas las medidas corporales variaron estacionalmente, siendo la estación de mayor desarrollo el otoño y la de menor desarrollo la primavera. A los tres años de edad los machos continuaron aumentando el peso corporal y el perímetro de cuello. Las características seminales variaron estacionalmente, presentando la mayor calidad durante el verano y el otoño, y la menor en la primavera. La fecha de caída de astas no difirió entre los machos adultos y juveniles, y fue similar a la previamente descrita para la población. Las concentraciones séricas de testosterona variaron estacionalmente, presentando las mayores concentraciones en el otoño, y las menores durante el invierno y la primavera. Durante la estación reproductiva (otoño) los machos juveniles tuvieron menores concentraciones séricas de testosterona que los machos adultos. La frecuencia de comportamientos agonistas varió estacionalmente, presentando la mayor frecuencia de actividad durante el otoño, y la menor en la primavera. Los machos adultos y juveniles utilizaron los comportamientos agonistas en forma diferente a lo largo del año. Los machos juveniles utilizaron más frecuentemente unidades agonistas con más contacto físico que los adultos. La frecuencia de marcación no presentó un claro patrón estacional. Los machos adultos y juveniles utilizaron en forma diferente las unidades de marcación a lo largo del año. El comportamiento de marcación se estabilizó a edad más temprana que el comportamiento agonista. Los machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) presentaron un patrón reproductivo estacional, siendo el otoño y la primavera las estaciones de mayor y menor desarrollo reproductivo respectivamente.

## Abstract

The main objective of this thesis was to describe the reproductive seasonal pattern in adult and young pampas deer males (*Ozotoceros bezoarticus*) that were kept in semicaptivity, receiving homogenous feeding throughout the year. The specific objectives were to determine the seasonal variation of the deer' body measures (weight, neck perimeter, height at the withers, testicle size (scrotum circumference, testicle volume), gonad-somatic index, semen characteristics (semen quality, number of spermatozoa/ejaculate, progressive and individual sperm motility, alive and normal spermatozoa, spermatozoa acrosome integrity), antler casting date, serum concentration of testosterone, serum concentration of CK, FAS, phosphorus, calcium, magnesium and cholesterol, and frequency of agonistic and marking behaviours. For the work, animals from the deer population of the Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (Piriápolis, Uruguay) were used. The animals were kept in semicaptivity, daily fed with ration. Two groups of 6 males each were used; one was formed by adult deer (more than 5 years old) and the other by yearlings. Seasonal morphometric measurements were taken as well as blood and semen samples from autumn 2008 to autumn 2009. The samples were taken under general anaesthetic, and the semen was obtained by electroejaculation. The antler casting date was recorded from the July 1st to the date of the casting of the first antler. During the whole year, weekly recordings of the agonistic and marking behaviours were made. All body measurements varied seasonally, showing maximum development in autumn, and less in spring. At three years of age, the males still increased their body weight and neck perimeter. Seminal characteristics varied seasonally, increasing more during winter and autumn and less in spring. The antler casting date did not differ in young and adult males and was similar to the one described previously for the general population. Serum concentrations of testosterone varied seasonally showing greater values in autumn and lower in winter and spring. During the breeding season (autumn) the young males had lower serum concentration of testosterone that observed in male adults. The frequency of agonistic behaviours varied seasonally, showing more activity during autumn and less during the spring. The young and adult males showed different agonistic behaviour during the year. Young males showed agonistic behaviour with much more physical contact than the one observed in adults. The marking frequency did not show any seasonal patterns. Young and adult males used the marking units differently during the year. Marking behaviour was established at a younger age than the agonistic behaviour. The male deer (*Ozotoceros bezoarticus*) presented a seasonal reproductive pattern, being autumn and spring the seasons of the more and the less reproductive development respectively.

## Índice de contenidos

Dedicatoria.....	2
Agradecimientos.....	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
Lista de Figuras.....	8
Lista de abreviaturas.....	10
<b>1. Introducción.....</b>	<b>11</b>
1.1.Venado de campo.....	11
1.2. Estacionalidad y estrategia reproductiva.....	15
1.3. Control neuroendócrino de la estacionalidad.....	17
1.4. Estacionalidad reproductiva en rumiantes machos.....	20
1.5. Estacionalidad y desarrollo.....	21
1.6. Estacionalidad de cérvidos.....	22
1.7. Estacionalidad reproductiva en venado de campo .....	26
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>30</b>
<b>3. Hipótesis.....</b>	<b>31</b>
<b>4. Materiales y Métodos.....</b>	<b>32</b>
4.1. Condiciones de trabajo.....	32
4.2. Caída de astas.....	35
4.3. Muestreos estacionales.....	35
4.3.1. Manejo anestésico.....	35
4.3.2. Morfometría.....	36
4.3.3. Extracción y procesamiento de sangre .....	36
4.3.4. Electroeyaculación.....	36

4.3.5. Semen.....	37
4.3.6. Testosterona.....	38
4.3.7. Bioquímica sanguínea.....	38
4.4. Registros comportamentales.....	39
4.5. Análisis estadístico.....	41
<b>5. Resultados.....</b>	<b>42</b>
5.1. Caída de astas.....	42
5.2. Morfología.....	42
5.3. Semen.....	46
5.4. Concentraciones de testosterona.....	51
5.5. Bioquímica sanguínea.....	52
5.6. Comportamiento.....	55
<b>6. Discusión.....</b>	<b>50</b>
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>68</b>
<b>8. Referencias .....</b>	<b>69</b>

## Lista de figuras

1. Mapa de Uruguay mostrando la ubicación geográfica de las poblaciones silvestres de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ), y una tercera en régimen de semicautiverio en la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (ECFA).....	12
2. Fotografías donde se observa un macho adulto con astas y una hembra de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) amamantando a su cría.....	13
3. Fotografía que muestra un grupo de venados de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) de la ECFA.....	15
4. Esquema representando la distribución de partos en <i>Odocoileus</i> en Norteamérica (extraído de Bronson, 1989).....	24
5. Esquema representando la estacionalidad de partos y crías en las poblaciones de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en Sudamérica.....	27
6. Esquema representando la estacionalidad reproductiva de machos y hembras de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) y su relación con el fotoperiodo.....	28
7. Esquema representando el ciclo de astas en las diferentes poblaciones de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en Sudamérica.....	29
8. Esquema representando la duración de horas luz en las diferentes estaciones entre el año 2008 y 2009 en Uruguay ( Sunrise Sunset Calendar, 2011).....	32
9. Fotografía satelital mostrando los encierros que alojan los venados de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA (extraído de Villagrán, 2009).....	34
10. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de peso corporal, perímetro de cuello, y altura a la cruz en machos adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	44
11. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de volumen testicular, índice gonadosomático, circunferencia escrotal en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	45
12. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros seminales: motilidad progresiva, calidad, espermatozoides vivos, espermatozoides normales en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	47
13. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros seminales: total de espermatozoides por eyaculado, total de espermatozoides motiles, total de	

espermatozoides motiles en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	48
14. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros seminales: total de espermatozoides vivos, total de espermatozoides normales, total de espermatozoides con acrosomas normales en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	49
15. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros seminales: acrosomía espermática en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	50
16. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de las concentraciones de testosterona en machos adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	51
17. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros bioquímicos: CK y FAS en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	53
18. Gráficos mostrando las variaciones estacionales de los parámetros bioquímicos: fósforo, magnesio, y colesterol en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	54
19. Gráfico mostrando las variaciones estacionales de las frecuencias de comportamiento agonista en machos adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	55
20. Gráficos mostrando las variaciones del comportamiento agonista en adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA en las diferentes estaciones .....	56
21. Gráfico mostrando las variaciones estacionales de las frecuencia de comportamiento de marcación en machos adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	57
22. Gráficos mostrando las variaciones del comportamiento de marcación en las diferentes estaciones, en machos adultos y juveniles de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA.....	59
23. Esquema representando la estacionalidad reproductiva en machos de venado de campo ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) en la ECFA en condiciones de semicautiverio.....	60

## Lista de abreviaturas

APH: Área Premamilar Hipotalámica

CITES: Convention of Internacional Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

CK: Creatin Kinasa

ECFA: Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar

FAS: Fosfatasa Alcalina Sérica

IUCN: Internacional Union for Conservation of Nature and Natural Resources)

NSQ: Núcleo Supraquiasmático

PRL: Prolactina

PT: *Pars Tuberalis*

Spz: Espermatozoides

# 1. Introducción

## 1.1 Venado de campo

El venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758), es un mamífero que ocupaba la mayor parte de las praderas del este de Sudamérica, entre los 5° y los 41° S (Jackson & Langgut, 1987). En el siglo XIX, los naturalistas y viajeros reportaron una gran abundancia de la especie (Jackson & Langgut, 1987; Jackson et al., 1980, Cabrera, 1943). De hecho, se lo consideraba el cérvido más abundante en el Uruguay (Jackson et al., 1980). Ejemplo de ello fueron los comentarios de Charles Darwin en su visita a nuestro país, incluidos en “El viaje del Beagle”, en los que reportó encontrar una gran cantidad de venados de campo en zonas cercanas a Montevideo, destacando el particular y fuerte olor que despedían los machos (Darwin, 1832-33). Existen registros de la exportación de más de 2.000.000 de pieles de venado desde el Río de la Plata durante el siglo XIX (Thornback y Jenkins, 1982). Sin embargo, debido a la acción humana la población ha disminuido marcadamente, tanto en cantidad como en dispersión. Esto puede ser explicado por la fragmentación del hábitat, el desarrollo de la agricultura y la competencia por espacios con los animales domésticos (Demaría et al., 2003), la caza ilegal (Jackson y Giullieti, 1988) y la transmisión de enfermedades infecciosas (Junguis, 1975-76).

En las dos últimas décadas el aislamiento de las poblaciones ha empujado a la especie al borde de la extinción. Se ha reportado la existencia de pequeñas poblaciones en Argentina (Buenos Aires, Bahía Samborombón: Vila y Beade, 1997; Corrientes: Parera y Moreno, 2000; San Luis: Dellafiore et al., 2003; Santa Fé: Pautasso et al., 2002), Brasil (Carvalho, 1973, Góss-Braga, 1999) y Uruguay (González, 1993, Cosse, 2001). Aunque hace algunos años se reportó la existencia de pequeñas poblaciones en Bolivia (Tarifa, 1993), no existe información actualizada al respecto.

En Uruguay, la especie ha pasado a ser poco común, existiendo únicamente dos poblaciones en estado silvestre, cada una de las cuales está compuesta por una subespecie diferente estando su cuidado a cargo de los propietarios de los predios donde habitan. Ambas subespecies fueron diferenciadas entre sí por características morfológicas y genéticas (González et al., 2002). En efecto, *O. b. uruguayensis* se halla únicamente en la localidad de

Sierra de los Ajos en el Departamento de Rocha, con una población estimada hace algunos años en 300 animales (Weber y González, 2003). La otra subespecie, *O. b. arerunguaensis* se encuentra únicamente en las localidades de Arerunguá y El Tapado en el Departamento de Salto con una población aproximada de 700 animales (Weber y González, 2003) (Figura 1). Desde el año 1975 la especie está incluida en el Apéndice I de CITES (Convention of Internacional Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora; CITES, 2011), lo que significa que se encuentra amenazada de extinción. La IUCN (Internacional Union for Conservation of Nature and Natural Resources) cataloga a la especie (*O. bezoarticus*) como “Casi Amenazado” (UICN, 2011). Cabe destacar que no existe categorización de subespecie, lo que colocaría a cada una de ellas en una situación más vulnerable.

La conservación de las especies en peligro de extinción no sólo es importante desde el punto de vista cultural y bioeconómico, sino también desde el punto de vista de la conservación de los recursos zoogenéticos que componen la biota de una región. En este sentido, las poblaciones silvestres de venado de campo que habitan nuestro territorio revisten gran importancia, debido a que son dos subespecies endémicas. Existe una tercera población de venado de campo en nuestro país en condiciones de semicautiverio, localizada en la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (ECFA), originada a partir de animales provenientes de la población de Salto (ver Figura 1). Actualmente la ECFA cuenta con aproximadamente 80 animales, entre machos, hembras, juveniles y crías.



Figura 1: Ubicación geográfica de las dos subespecies de venado de campo; *O. b. arerunguaensis* (círculo blanco), departamento de Salto; *O. b. uruguayensis* (círculo negro), departamento de Rocha. La población en semicautiverio (ECFA) se indica con el cuadrado blanco.

El venado de campo es un ciervo de pequeño tamaño, de pelaje color bayo sin manchas (Figura 2). Aunque no se incluyen datos concretos, se plantea que en las poblaciones silvestres los machos alcanzan una longitud de 130 cm (desde la punta de la nariz hasta la base de la cola), una altura a la cruz de 75 cm, y pesan aproximadamente 35 kg (Jackson, 1987). Sin embargo, los datos obtenidos a partir de los animales criados en la ECFA indican un tamaño de 90–100 cm de largo, altura a la cruz de 65–70 cm, y peso de 30–35 kg (Ungerfeld et al., 2009). La especie presenta dimorfismo sexual marcado: los machos son de mayor tamaño corporal y pelaje más oscuro que las hembras (Jackson, 1987; Cabrera, 1943). Estos presentan astas, que alcanzan una longitud máxima de 30 cm y presentan 3 puntas (Cabrera, 1943). Las hembras alcanzan 85 cm de largo y 65 cm de altura, con un peso de 20–25 kg. Sólo paren una cría por año, la que presenta manchas blancas al nacimiento, las que luego va perdiendo paulatinamente (Ungerfeld et al., 2008b).



Figura 2. En la fotografía de la izquierda se puede observar una hembra de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) con su cría, la que presenta las características manchas blancas en el flanco. La fotografía de la derecha muestra un macho con astas con apariencia ósea.

Los machos presentan un olor característico, similar a cebolla o ajo, que es percibido a gran distancia durante la estación reproductiva (Frädrich, 1981). En esta especie se han descrito al menos tres tipos de glándulas cutáneas (Langguth y Jackson, 1980) que podrían estar implicadas en la producción de las sustancias volátiles que producen dicho olor. La glándula preorbital se encuentra ubicada en el ángulo medial del ojo, cercana al hueso

lacrimal. La glándula tarsal, ubicada en la cara medial de la articulación tarsal, y la glándula interdigital entre las primeras falanges de los dos dedos principales de los miembros anteriores y posteriores. La composición química de las secreciones sebáceas de dichas glándulas ha sido recientemente descrita en forma preliminar (Rossini et al., 2011). Las glándulas cutáneas están presentes tanto en machos como en hembras, pero aparentemente sólo los machos emiten el olor que caracteriza a la especie. Hasta el momento, sólo se ha observado a los machos desplegar comportamientos de marcación asociados al depósito de las secreciones glandulares en el ambiente (Ungerfeld et al., 2008b). Tampoco se han observado comportamientos de marcación durante el cortejo o cópula como existe en otros cérvidos (Clutton-Brock et al., 1982).

La población de la ECFA se originó a partir de 7 animales (3 machos y 4 hembras) menores de un mes que fueron capturados en la población de Salto (*O. b. arerunguaensis*) y trasladados a la ECFA en 1981 (González-Sierra, 1985). En 1982 otros 14 animales (5 machos y 9 hembras), también menores de un mes, fueron capturados en la misma población y trasladados a la ECFA. Cinco de ellos (2 machos y 3 hembras) murieron antes de alcanzar la edad reproductiva. En la actualidad (2011) los animales son manejados en grupos de machos, o en harenes de un macho con 5-7 hembras y sus crías, alojados en encierros de 0,5-1 ha (González-Sierra, 1985) (Figura 3).

La ECFA se encuentra localizada en la cercanía de las ciudades de Pan de Azúcar y Piriápolis, sobre la falda del Cerro Pan de Azúcar (33°47'S, 54°00'O; altitud: ~ 200 m; a unos 6000 m de la costa). De acuerdo a los datos meteorológicos registrados entre 1961 y 1990 en la estación meteorológica Carrasco (34°54' S, 56°00'O), el promedio de lluvia anual ha sido de  $1190,3 \pm 57,5$  mm (media  $\pm$  EE; rango: 846,0 – 1657,5 mm), distribuidas en forma homogénea a lo largo del año ( $100,0 \pm 4,7$  mm/mes; rango:  $73,6 \pm 12,1$  –  $121,6 \pm 17,9$  mm para diciembre y octubre respectivamente). Las horas de luz variaron de 8,8 a 13,5 horas a lo largo del año (Sunrise Sunset Calendar, 2011).



Figura 3. Fotografía panorámica de un encierro de la ECFA. Se puede observar hembras e individuos juveniles alimentándose de la pastura del propio encierro. Además se aprecian las dimensiones y la cantidad árboles y arbustos que caracterizan a estos encierros.

### *1.2 Estacionalidad y estrategia reproductiva*

Las dinámicas astronómica y ambiental repercuten y se reflejan en el ambiente terrestre, generando un ritmo anual que influye sobre la vida en la tierra. Las estaciones son el resultado de varios factores, siendo el principal la inclinación del eje terrestre. Por esta inclinación, los hemisferios son desigualmente iluminados en el mismo momento del año. A lo largo del año estas variaciones lumínicas generan diferencias atmosféricas entre las regiones terrestres. En las zonas de la Tierra comprendidas entre los trópicos y los círculos polares (latitudes 23°-66°) las cuatro estaciones se encuentran bien diferenciadas, separadas por los solsticios de verano e invierno, y equinoccios de primavera y otoño. Cada una de las estaciones presenta características meteorológicas y variaciones en la cantidad de horas luz (fotoperiodo) diferentes. Sin embargo, en la zona ecuatorial las estaciones no son tan marcadas, encontrándose principalmente periodos lluviosos y secos (Lamberck, 1980).

El éxito reproductivo depende de la habilidad de las especies para adaptarse a factores ambientales tales como los cambios estacionales de temperatura, lluvias, y disponibilidad de

alimentos, los que en definitiva moldean las estrategias reproductivas a través de la selección natural (Lincoln & Short, 1980). La dinámica ambiental genera cambios importantes tanto en la flora como en la fauna, y con ello una relación de dependencia de los animales frente al ambiente, ya que el mismo es el que proporciona los recursos alimenticios para su supervivencia. Por esta razón es de esperar que los animales adapten su vida a esta dinámica, sincronizando los eventos de mayor requerimiento energético (época de partos y lactación) a la época de mayor oferta alimenticia, maximizando de esta forma la supervivencia de las crías (Bronson, 1989). Particularmente la dinámica estacional de las pasturas es muy marcada, ya que las plantas dependen directamente de la luz, temperatura y humedad para su crecimiento, generando en los herbívoros una marcada adaptación a dicha dinámica. Por esto, existen especies que se reproducen exclusivamente en determinados momentos del año. Dichas especies son llamadas reproductoras estacionales (Bronson, 1989).

Antes y durante la estación reproductiva ocurren cambios fisiológicos, comportamentales y morfológicos tanto en machos como en hembras, los que son indispensables para que ocurra eficientemente la reproducción. Estos cambios son moldeados por diversidad de factores ambientales, que a grandes rasgos se clasifican en dos grupos que operan a diferentes niveles. Los *factores próximos*, son aquellos que permiten al animal predecir y obtener información del ambiente. Uno de los factores próximos más importantes es el fotoperiodo. Otros factores próximos son la disponibilidad de alimento, así como también componentes o señales particulares generadas por las plantas en un momento determinado del año. Los *factores últimos o finales*, son aquellos que moldean las estrategias reproductivas por medio de la selección natural. Estos son principalmente la disponibilidad de alimento, factores climáticos como la lluvia o la temperatura, y la relación entre ellos. También se han descrito como factores finales, aunque de menor relevancia, la presión predatoria y la competencia de las especies por un mismo recurso (Bronson, 1989; Malpaux, 2006).

Si bien existe un ritmo endógeno que determina la estacionalidad reproductiva que es independiente de señales ambientales, el fotoperiodo es la principal señal que ajusta, es decir que “pone en hora” la estación reproductiva en cada especie (Malpaux, 2006). Además de obtener información diariamente del fotoperiodo, los animales deben integrar esta información para saber en qué momento del año se encuentran. En el caso de los ovinos, la

estación reproductiva se manifiesta cuando los animales perciben el pasaje de fotoperiodo creciente a decreciente, lo que en la naturaleza correspondería al inicio del verano astronómico (Malpaux et al., 1988). Esta integración de la información lumínica a lo largo del año es llamada “historia del fotoperiodo” (Goldman, 2001; Malpaux, 2006). Por tanto, la estacionalidad reproductiva de las especies se define según qué información los animales estén utilizando para determinar el comienzo de la estación, siendo reproductores estacionales de *día corto* (otoño, ej: ovinos) o *día largo* (primavera; ej: equinos) (Malpaux, 2006).

Lo que en definitiva determina si una especie es de día corto o largo es la duración de la gestación, dado que en todos los casos el resultado final es que los partos ocurran en primavera, ya que es la estación más favorable para la supervivencia de las crías (Bronson, 1989). Tomando como ejemplo los ovinos, los partos ocurren en primavera y la duración de la gestación es de 5 meses, por lo que la estación reproductiva coincide con el otoño, cuando la cantidad de horas luz disminuye. Otra característica a tener en cuenta en especies polígamas que conforman harenes, es que los machos deben estar en óptimas condiciones reproductivas antes de que las hembras comiencen a ciclar (Bronson, 1989). En los ovinos este adelanto está determinado por cambios neuroendócrinos y principalmente por el tiempo que requiere la espermatogénesis, que es de aproximadamente 49 días (Clermont, 1972 citado por Kerr et al., 2006).

### *1.3 Control neuroendócrino de la estacionalidad*

La interpretación de las señales ambientales por parte de los animales, principalmente los cambios del fotoperiodo, es posible gracias a un complejo circuito neuroendócrino. La glándula pineal secreta la hormona melatonina, la que es el mediador de la información entre el SNC, el ambiente y el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal (ver revisiones: Goldman, 2001; Malpaux, 2006). La luz ambiental es percibida por receptores localizados en la retina que envían la información a través del nervio óptico al núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado en el hipotálamo anterior, siendo este el principal generador de ritmos circadianos en mamíferos. Luego la información viaja por el núcleo paraventricular y el ganglio cervical superior hacia la glándula pineal, la que responde secretando melatonina durante las horas de oscuridad. Esta secreción hormonal presenta un ritmo circadiano, con concentraciones

mayores durante las horas de oscuridad, y menores durante las horas de luz. Este ritmo de secreción se manifiesta independientemente de señales ambientales, pero es puesto en hora por los cambios de luz/oscuridad, generados naturalmente por el amanecer y el atardecer. El tiempo que separa un evento del otro (atardecer y amanecer), determina la duración de la secreción nocturna de melatonina (Goldman, 2001; Malpaux, 2006).

La melatonina es una hormona que tiene como función primordial brindar información al SNC sobre el ritmo diario luz/oscuridad. Dicha información es importante para todas las funciones biológicas circadianas o circanuales (Malpaux et al., 2001). Por esta razón la melatonina tiene gran diversidad de sitios de acción y funciones, además de la reproductiva, influyendo sobre la termorregulación, la hibernación, las mudas y el crecimiento de pelaje (ver revisión: Lincoln et al., 2003). El principal sitio de acción de la melatonina en mamíferos es la *pars tuberalis* (PT) de la hipófisis (Malpaux et al., 2006). El pequeño rumiante en el que más se ha estudiado esta regulación es el ovino, encontrándose varios sitios de acción de la hormona (Malpaux et al., 1997). A diferencia de otros mamíferos, en el ovino la acción de la melatonina sobre la PT no genera cambios en el eje neuroendócrino reproductivo (Malpaux et al., 1995; 1997). En estudios realizados en ovejas en los que se colocaron microimplantes de melatonina en el área premamilar hipotalámica (APH) se registró un aumento en la secreción de LH (Malpaux et al., 1998; Lincoln, 2002b). La realización de lesiones en el APH alteró la duración y la época del año de comienzo de la estación reproductiva inducida por el fotoperiodo (Lincoln, 2002a). Por tanto, en pequeños ruminantes la acción de la melatonina sobre dicha área es clave en el comienzo de la estación reproductiva. La función de la melatonina en la PT en ovinos se encuentra más vinculada a la secreción estacional de prolactina (Lincoln & Clarke, 1994; Malpaux et al., 1995), que a la regulación directa de la reproducción. Lincoln (2002a) planteó que la melatonina actúa controlando la estacionalidad reproductiva a nivel cerebral, no en la hipófisis. Hasta el momento no es claro el mecanismo de acción de la melatonina en la regulación de la secreción de GnRH en las diferentes especies, ya sean especies de día corto o largo. La señal endocrina que desencadena el aumento de la pulsatilidad de GnRH y determina el comienzo de la estación reproductiva en las diferentes especies aún no es clara.

En carneros Soay el pasaje de horas luz creciente a decreciente, ya sean naturales o artificiales, genera aumentos en la pulsatilidad de LH y las concentraciones de FSH. Dichos

aumentos hormonales comienzan 4 semanas después del cambio lumínico, siendo máximas las concentraciones a los 4 meses (Lincoln & Davidson, 1977). Estas respuestas se han observado tanto en carneros domésticos como salvajes (Lincoln & Short, 1980; Lincoln et al., 1981). En los machos el aumento en la frecuencia de pulsos de LH estimula la síntesis y secreción de testosterona por parte de las células intersticiales (de Leydig) del testículo (O'Donnell et al., 2006). El aumento de testosterona sérica estimula cambios morfológicos y comportamentales que caracterizan a la estación reproductiva en los machos (Lincoln & Short, 1980). Los principales cambios durante la misma son: hiperemia inguinal, crecimiento del vellón, aumento de frecuencia de los comportamientos sexuales y agresivos (Lincoln & Davidson, 1977), aumento en el tamaño testicular (Lincoln et al., 1981), en el diámetro de los túbulos seminíferos y la altura del epitelio germinal, así como del olor emitido (Lincoln & Short, 1980). Todos estos cambios tienen una alta correlación positiva con las concentraciones de testosterona circulante (Lincoln et al., 1990).

La prolactina (PRL) es otra hormona relacionada a los cambios estacionales en mamíferos. Esta hormona es secretada por la *pars distalis* de la adenohipófisis. La misma presenta un patrón de secreción estacional, aumentando su concentración sérica durante el verano (días largos) y disminuyendo durante el invierno (días cortos) (ver revisión: Curlewis, 1992). Además, presenta un patrón de secreción diario bifásico, aumentando su concentración al amanecer y al atardecer (Lincoln & Short, 1980). La acción directa de la PRL sobre la reproducción no es muy clara, dado que el patrón de secreción estacional es conservado entre especies, siendo máximo en el verano, mientras que la estación reproductiva es variable entre especies (Curlewis, 1992). En carneros, Lincoln (1990) sugirió que la PRL podría actuar como una señal que indique que comenzó el verano. Existen evidencias que altas concentraciones de PRL bloquean los receptores de LH en la células de Leydig, inhibiendo de esta forma la secreción de testosterona (Gregerson, 2006; Bubenik, 2006). La función de la PRL vinculada al crecimiento de cuernos y cambios estacionales de pelo y lana está más ampliamente evidenciada (Curlewis, 1992). En carneros, el crecimiento de los cuernos es mínimo durante el otoño, cuando las concentraciones de PRL son bajas. El crecimiento de los cuernos sigue un patrón similar a la secreción de la hormona, aumentando la tasa de crecimiento con concentraciones altas de PRL, siendo mínimo cuando las concentraciones son bajas (Lincoln, 1990). En muflones, se observó una correlación positiva

entre la secreción de PRL y el crecimiento de los cuernos en animales adultos, pero no en animales subadultos (Santiago–Moreno et al., 2005). En carneros, la nutrición también influye en la secreción de la PRL, ya que aumenta su concentración con niveles altos de alimentación (Tjondronegoro, 1992, citado por Hötzel, 1995). En base a toda la información generada a partir de ovinos domésticos y salvajes, así como en muflones (ancestro de los ovinos domésticos) se especula que la PRL está íntimamente relacionada a la adaptación de los animales a su ambiente, modulando el crecimiento y muda del pelo y la lana (Lincoln, 1990; Santiago–Moreno et al., 2004, 2005), siendo más marcada su función adaptativa cuanto menos domésticas sean las especies (Lincoln, 1990; Santiago–Moreno et al., 2004, 2005). Las hormonas tiroideas tienen un rol importante en la expresión de la estacionalidad reproductiva en gran variedad de especies (Malpaux, 2006). En ovejas está demostrado que estas hormonas actúan en el área premamilar y el área preóptica media (Anderson et al., 2003). En dichas áreas estas hormonas inhiben la secreción de LH (Thiéry et al., 2002; Anderson et al., 2003), promoviendo de esta manera el final de la estación reproductiva (Malpaux, 2006). En carneros y ciervos rojos macho tiroidectomizados se observó que el tamaño testicular y las concentraciones de FSH alcanzadas durante la estación reproductiva se mantienen aún fuera de estación (Shi & Barrel, 1992; Parkinson & Follet, 1994). La inhibición de la secreción de LH por las hormonas tiroideas es efectiva solo durante un corto periodo de tiempo, entre 60 y 90 días antes de la finalización de la estación reproductiva (Thrun et al., 1997). Todos estos antecedentes evidencian el rol de las hormonas tiroideas en la finalización de la estación reproductiva, tanto en hembras como en machos.

#### *1.4 Estacionalidad reproductiva en rumiantes machos*

Las condiciones medioambientales pueden influir en las estrategias reproductivas adoptadas por los ungulados (Apollonio, 1989; Post et al., 2003). En los machos, la estacionalidad reproductiva debe adelantarse al comienzo de la estación de las hembras debido a la duración de la espermatogénesis (aproximadamente 49 días; Clermont, 1972 citado por Kerr et al., 2006), además de requerirse tiempo para desarrollar las características sexuales secundarias. Además, existe una presión de selección a favor de temporadas reproductivas más largas en machos que en hembras de una misma población, de tal manera que el macho esté disponible para copular con la primera de las hembras que comience a ciclar y también pueda hacerlo con la última hembra que deje de ciclar (Bronson, 1989). En

pequeños rumiantes la estación reproductiva se produce durante el otoño, cuando el fotoperiodo es decreciente, reflejándose endocrinológicamente por el aumento en la pulsatilidad de LH, y las concentraciones de FSH y testosterona (Lincoln & Short, 1980). Los aumentos de estas hormonas son los que generan los cambios estacionales morfológicos, comportamentales y seminales. Se encuentra ampliamente documentado en pequeños rumiantes, principalmente en carneros, que durante la estacionalidad reproductiva se produce un aumento del peso y tamaño testiculares, hiperemia inguinal (“sexual flush”), tamaño de cuernos, y largo de vellón. Además, aumenta la frecuencia de comportamientos sexuales y la agresividad entre los machos (Lincoln & Davidson, 1977), el tamaño testicular y el diámetro de los túbulos seminíferos (Hochereau de Reviers & Lincoln, 1978; Lincoln & Short, 1980). Dichos cambios se pueden correlacionar con las variaciones estacionales en las concentraciones de melatonina, testosterona y prolactina (Lincoln & Short, 1980). Por otro lado existen cambios comportamentales relacionados a la dinámica poblacional: en ciervo rojo y carnero Soay los machos en estado silvestre fuera de la estación reproductiva se mantienen en grupos del mismo sexo, pero antes de comenzar la estación los grupos se dispersan en busca de las hembras. Los machos comienzan a ser intolerantes frente a otros machos, enfrentándose entre sí y marcando el territorio (Clutton-Brock et al., 1982; Grubb, 1974).

### *1.5 Estacionalidad y desarrollo*

El tiempo que demora una especie en llegar a la pubertad y la madurez sexual es clave para entender las estrategias reproductivas adoptadas por cada especie (Bronson, 1989). Las hembras de muflones juveniles presentan un patrón estacional más marcado que las adultas. Si bien el comienzo de la estación es similar, las hembras juveniles presentan anestros más largos que las adultas (Santiago–Moreno et al., 2001). En machos de la misma especie los cuernos crecen más rápido en animales juveniles que en adultos, no existiendo diferencias en la circunferencia escrotal entre categorías (Santiago–Moreno et al., 2005). Los mismos resultados fueron descritos por Lincoln (1998), el que atribuyó dichas diferencias a que el crecimiento de los cuernos es mayor con concentraciones bajas de testosterona. Por esto los cuernos crecen más en los juveniles, ya que presentan menores concentraciones de la hormona (Lincoln, 1998).

Los cérvidos presentan un ciclo estacional de astas que ocurre durante toda la vida del animal, repitiendo un ciclo por año. Se puede definir el comienzo del ciclo con la caída de las astas, ya que inmediatamente comienza un nuevo crecimiento en el que las mismas están rodeadas de una capa de piel (felpa), que posteriormente cae para permanecer durante el resto del año con astas limpias y de apariencia ósea. El ciclo de astas está vinculado a los cambios anuales de concentración sérica de testosterona. La caída de las astas ocurre entre 2 y 4 semanas luego de la disminución anual en la producción de testosterona, por lo que su crecimiento comienza con concentraciones bajas. La finalización del crecimiento y la mineralización, se producen cuando la concentración de la hormona aumenta (ver revisiones: Bubenik, 1991; Lincoln, 1992). En renos (*Rangifer tarandus*), los machos adultos desarrollan sus astas tres meses antes que los animales juveniles, llegando al inicio de la estación reproductiva con las astas sin felpa, mientras que los juveniles todavía permanecen con felpa (Leader-Williams, 1979). En el venado de campo los machos adultos pierden las astas antes que los machos juveniles en su primer ciclo de astas (Ungerfeld et al., 2008). En ciervo rojo los animales juveniles (1,5 años) presentan mayor dispersión en las concentraciones de testosterona durante la estación reproductiva que los subadultos (2,5 años) (Gómez et al., 2006). Todos estos antecedentes podrían indicar que las diferencias en la fecha de caída y crecimiento de las astas entre categorías podrían deberse a diferencias en las concentraciones séricas de testosterona entre machos de diferentes edades.

### 1.6 Estacionalidad en cérvidos

Existen 40 especies y 200 subespecies de cérvidos (Whitehead, 1993, citado por Asher, 2011) distribuidas por todo el mundo, habitando en casi todas las latitudes. Es posible encontrar una gran variedad de estrategias reproductivas entre las diferentes especies, habitando y adaptándose a una gran variedad de ambientes. Existen especies de ciervos tropicales que no presentan un patrón reproductivo vinculado al fotoperiodo, sino a otras señales ambientales tales como la disponibilidad de alimento, la competencia por espacio o la presión de predación (Asher, 2011). El ciervo asiático *Cervus eldi thamin* que habita la zona tropical (23°N) presenta reproducción estacional relacionada a la abundancia de las pasturas (Aung et al., 2001). En esta especie los animales se agrupan en los parches de forraje, y

durante ese agrupamiento ocurren los celos (Aung et al., 2001). En ciervo rojo existen diferencias en los patrones estacionales entre subespecies que pueden ser muy sutiles, de apenas semanas de diferencia (Scott et al., 2006). Existen otras especies que no presentan ningún patrón reproductivo estacional (muntjac, *Muntiacus reevesi*: Chapman et al., 1984; ciervo axis: Loudon & Curlewis, 1988; ciervo de Eld: Monfort et al., 1991). Un ejemplo de ciervo sudamericano no estacional es el guazubirá (*Mazama*), cuyo volumen testicular, características seminales, y concentraciones de testosterona sérica y fecal no varían a lo largo del año (Barrozo et al., 2001; Versiani et al., 2009), además de no presentar un patrón estacional en el ciclo de astas (Versiani et al., 2009).

Los cérvidos machos que manifiestan estacionalidad reproductiva presentan marcados cambios en las características morfológicas, aumentando el peso, el perímetro del cuello y el tamaño testicular durante la misma (Lincoln et al., 1972). También presentan cambios en la coloración del pelaje — el que se oscurece durante la estación reproductiva (Lincoln et al., 1972; Bubenik & Bubenik, 1985) — y aumentan la emisión corporal de olor (Lincoln et al., 1972). El ciclo de astas es una de las características morfológicas más llamativas, con un patrón estacional marcado, que se manifiesta anualmente aún bajo horas luz constantes (Gross, 1983 citado por Lincoln, 1992), o luego de eliminar la glándula pineal (Brown et al., 1978). Además se observa que en la estación reproductiva aumenta el diámetro de los túbulos seminíferos y el número de células germinales (Lincoln et al., 1972; Leader-Williams, 1979; Haigh et al., 1984), aumentando también el tamaño de las glándulas sexuales accesorias (Lincoln et al., 1972). Todos estos cambios reproductivos se reflejan en la calidad seminal, la que es óptima durante la estación reproductiva (Lincoln et al., 1972; Haigh et al., 1984; Asher et al., 2000). A su vez dichos cambios se encuentran correlacionados positivamente con el aumento en la pulsatilidad de LH (Asher et al., 1989; Suttie et al., 1992), las concentraciones de FSH (Bubenik et al., 1987) y de testosterona (Sempéré & Boissin, 1981; Haigh et al., 1984; Monfort et al., 1993b; Gaspar-Lopez et al., 2010).

La estacionalidad permite sincronizar los partos para aumentar la probabilidad de supervivencia de las crías (Bronson, 1989). En los cérvidos de climas templados, como los ciervos de Eld (Monfort et al., 1993ab), almizclero (Xiu Xiang et al., 2003), del padre David (Brinklow & Loudon, 1993), rojo (Clutton-Brock et al., 1982), y el corzo (Gaillard et al., 1993)

los partos se observan durante la primavera-verano, momento de mayor oferta de alimento. Existen varios trabajos que comprueban la existencia de una íntima relación entre la duración de horas luz/oscuridad, y el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal [ciervo rojo: Lincoln, 1971; Lincoln & Short, 1980; ciervo de Eld: Monford et al., 1993b, gamo (*Dama dama*): Asher et al., 1989]. A través de la manipulación de la duración del día o utilizando implantes de melatonina se ha evidenciado que existe una gran “plasticidad” en los ciervos para ajustar la estación reproductiva a diferentes circunstancias. Esta plasticidad en una misma especie es claramente visualizada en la síntesis realizada por Bronson (1989), donde se esquematiza la variación en la frecuencia de partos en la especie *Odocoileus* en diferentes latitudes. Las diferentes poblaciones se encuentran sometidas a diferentes fotoperiodos, siendo menos o más estacionales a medida que la población se encuentra más próxima o más distante del ecuador (ver Figura 4).

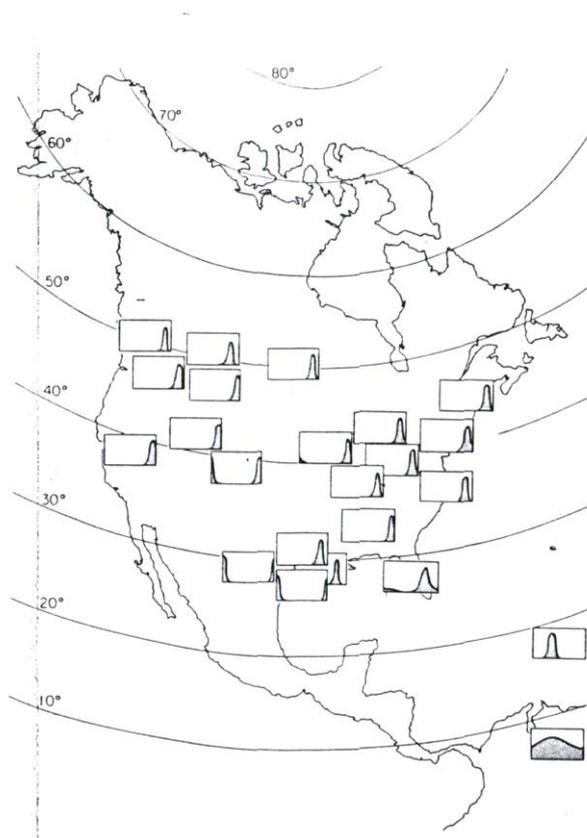


Figura 4. Distribución de las estaciones reproductivas reproductivas en poblaciones de ciervos del género *Odocoileus*. Los gráficos dentro de los cuadros representan la dispersión de partos en el año para cada población de ciervos (tomado de Bronson, 1989).

En cérvidos los cambios comportamentales ocurridos durante la estación reproductiva son llamativos. Los ciervos rojos macho aumentan el número de vocalizaciones y el tono de voz, haciéndose más grave a fines de verano-comienzo de otoño (Lincoln, 1971). Además, la frecuencia de los comportamientos agonistas y sexuales aumenta. Estos cambios no se observaron en animales castrados (Lincoln et al., 1972), evidenciando una asociación entre el comportamiento y la secreción de andrógenos testiculares. En vida libre son característicos los enfrentamientos entre machos previos a la estación reproductiva. De esta manera los machos ganadores son los que acceden a la mayor cantidad de hembras durante la estación reproductiva. Estos enfrentamientos les generan gran desgaste físico, perdiendo peso, recibiendo heridas graves, pudiendo incluso morir por las lesiones recibidas (Clutton-Brock et al., 1982).

Los machos, además de defender a las hembras de otros machos, deben defender y delimitar el territorio donde se encuentra su harén. Dicha delimitación la realizan por medio de marcas visuales o impregnando olores en el ambiente con secreciones glandulares. Los cérvidos envían señales químicas al ambiente mediante orina, materia fecal, saliva y secreciones provenientes de glándulas cutáneas especializadas (preorbital, tarsal, digital, urinaria y caudal; ver revisión: Gosling, 1985). Los sustratos más frecuentemente utilizados son árboles y arbustos, los que son frotados con las glándulas para depositar las secreciones como señales químicas para los demás animales (Gosling, 1985). En ciervo rojo los machos marcan a las hembras que pertenecen a su harén, además de realizarse automarcación para aumentar el olor emitido al ambiente (Lincoln et al., 1972; Clutton-Brock et al., 1982).

Durante los 2 ó 3 primeros años de vida el ciervo rojo presenta un crecimiento en forma escalonada estacional, más rápido durante el verano y más lento durante el invierno. Cuando los animales ya son adultos (mayores a 5 años), aumentan o disminuyen de peso como consecuencia de los cambios estacionales en la disponibilidad de alimento y en el apetito (Clutton-Brock et al., 1982). En renos se encontró que los machos adultos (mayores a 2,5 años) presentan astas de mayor tamaño que los juveniles (Høymork & Reimers, 2002). En ciervo rojo, los machos aumentan de peso hasta los 5 - 6 años de vida, periodo en el que se observa la mayor mortalidad de animales, confirmando la fuerte presión de selección a la que

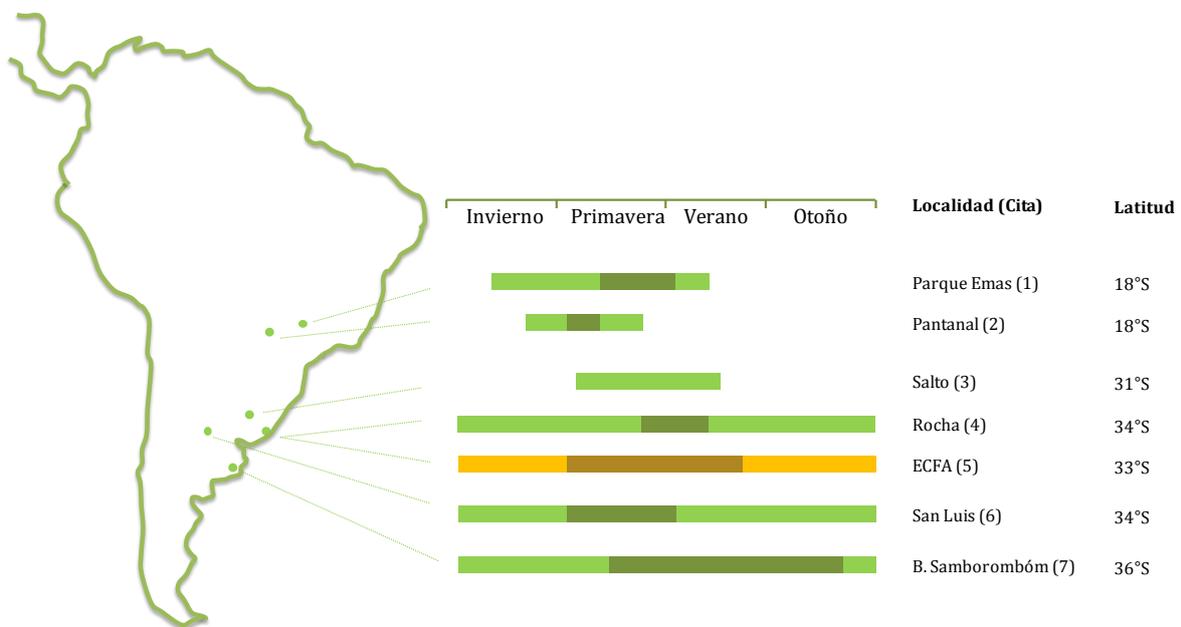
están sometidos los machos en la naturaleza antes de acceder a las hembras (Clutton-Brock et al., 1982). En los machos de venado de campo de la ECFA también se observó este lento crecimiento: aún bajo suplementación de alimento los machos demoran al menos tres años en alcanzar el peso adulto (Ungerfeld et al., 2011). Los autores consideran que este lento desarrollo y la alta mortandad que sufren los juveniles en especies de crecimiento lento podría ser una estrategia de selección indirecta de los machos.

Todos los cambios estacionales mencionados anteriormente generan en los animales grandes requerimientos energéticos. Dichos requerimientos se reflejan en la bioquímica sanguínea de los animales. Particularmente el crecimiento de astas, donde en un corto periodo de tiempo ocurre un rápido crecimiento óseo, genera la movilización al torrente sanguíneo de minerales y enzimas vinculadas a la osteogénesis como las FAS (Rosol & Capen, 1997). Además durante el crecimiento de las astas se genera nuevo tejido conectivo que dará origen a la matriz ósea, dicha matriz está muy vascularizada, por lo que se movilizan lípidos como el colesterol y otras enzimas como la CK vinculadas al crecimiento de los tejidos (Bruss, 1997).

### *1.7 Estacionalidad reproductiva en venado de campo*

El venado de campo es un ciervo sudamericano con una amplia distribución, existiendo poblaciones desde los 18° (Brasil) hasta los 36°S (Argentina). Habitan amplia variedad de hábitats, pudiendo encontrar animales viviendo en praderas en Uruguay y Argentina, ó en hábitats tropicales como el Pantanal (Brasil, 18°S). En esta especie el periodo en el que ocurren los partos varía de acuerdo a la subespecie y su localización (ver Figura 5). En términos generales, se puede afirmar que en poblaciones que habitan la zona templada - subtropical (*O. b. celer* en la Provincia de Buenos Aires, Argentina, *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* en el sudeste de Uruguay), los nacimientos ocurren durante todo el año, con un pico de parición en primavera (Uruguay: Ungerfeld et al., 2008c; González, 1997, Jackson et al., 1980). En la provincia de Buenos Aires (Argentina) los partos se concentran a fines de primavera, fines de verano/comienzo de otoño (Jackson & Langguth, 1987), coincidiendo aproximadamente con el pico de abundancia de pastura. La población en San Luis, Argentina (34°S), al límite sudoeste del rango de distribución del venado de campo, habita praderas secas con una media de precipitaciones anuales de 450 mm, de las que el 80% cae durante octubre-abril (fines de primavera - otoño), con temperaturas extremas en verano e invierno

(Anderson et al., 1970). Es interesante que esta población (*O. b. celer*), que está casi a la misma latitud que la población al sudeste de Uruguay, pero en un clima semiárido-continental, presenta un pico de parición más corto, limitado a la primavera. Además, los partos no se observan todo el año, sino que el período se extiende desde fines del invierno a fines de verano/comienzos de otoño. En comparación con lo que ocurre en las poblaciones de Uruguay y Argentina, *O. b. bezoarticus* habita zonas tropicales del Pantanal (Brasil, 18°S) donde la disponibilidad de comida varía notablemente en relación a los periodos lluviosos y secos. Por consiguiente, el período de partos no se extiende durante todo el año, sino que se limita a la estación lluviosa (julio-noviembre), con un pico en agosto–septiembre (Tomás, 1988b) (ver figura 5).



(1) Redford, 1987; (2) Tomás, 1988a; (3) González, 1997; (4) Jackson et al., 1980, González, 1997; Lombardi, 1993; (5) Ungerfeld et al., 2008. (6) Jackson y Langguth, 1987. (7) Merino y Moschione, 1995 citado por Merino et al, 1997.

(1) El autor no especifica las características para determinar la edad de las crías; (2) considera las crías que presentan pintas, observadas en forma directa o con binoculares; (3) el autor llama "periodo de parición" no especificando el pico de partos; (4) Lombardi, 1993 considera crías animales menores a tres meses, mediante observación directa y con binoculares; Jackson et al., 1980 no especifica criterio de edad ni método de observación; \* el pico de crías en esta localidad se determino en los meses que todos los autores observaron mas cantidad de crías. (5) en este trabajo los datos corresponden a parto y no a crías recién nacidas, sin contar las mortandad posterior. Por esta razón se indica con diferente color.



Figura 5. Distribución de partos y crías observadas en diferentes momentos del año en poblaciones de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en Sudamérica.

Sin embargo, de acuerdo a la mayoría de los datos la estacionalidad no es tan marcada como en otras especies de ciervo que habitan latitudes más altas, pero hay diferencias en la frecuencia de nacimientos observada a lo largo del año, lo que hace pensar en una estación reproductiva extendida, y una alta plasticidad para responder a las señales ambientales a corto plazo.

Los trabajos realizados en la ECFA vinculados a la estacionalidad reproductiva se resumen en la Figura 6. Como se puede observar, los partos ocurren durante todo el año, evidenciando que los machos pueden preñar a las hembras todo el año. Esto no implica que no existan cambios estacionales en las características reproductivas de los machos. Si bien los venados de la ECFA son suplementados con ración, las hembras igualmente presentan patrones estacionales de celos (febrero–mayo) (Morales-Piñeyrua, comunicación personal). En los machos, el ciclo de astas es estacional, no existiendo una gran dispersión en los eventos de caída, crecimiento, y pérdida de felpa (Ungerfeld et al., 2008b). Si bien los patrones de partos son extendidos, siguen una dinámica claramente ajustada al fotoperiodo como se puede observar en la Figura 6.

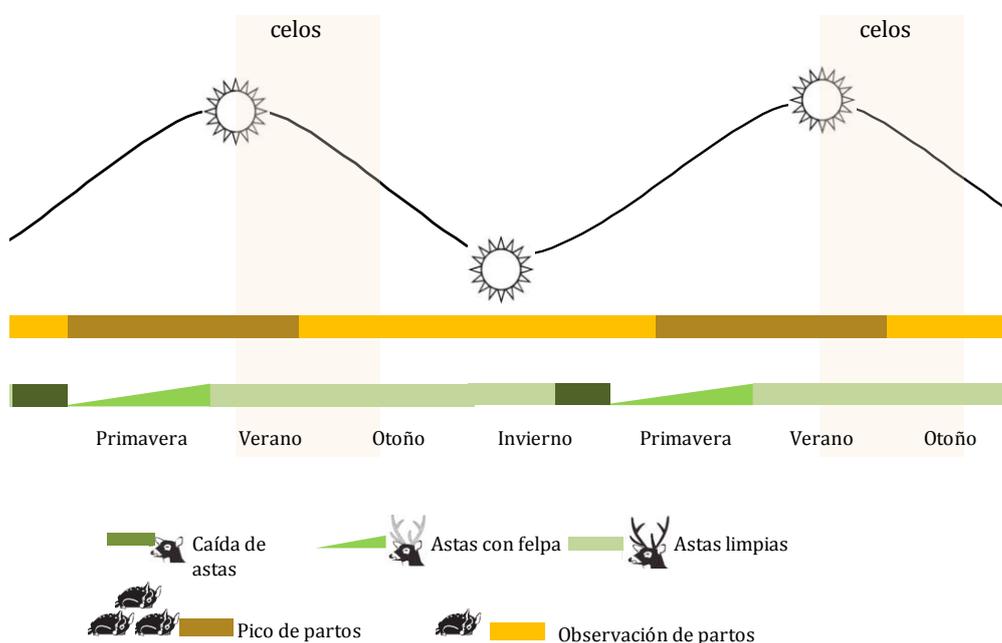


Figura 6. Esquema representando la duración de horas luz, periodo de celos, partos, ciclo de astas en la población de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) de la ECFA (33°47'S, 54°00'O) en condiciones de semicautiverio y alimentación constante.

Muchos estudios de estacionalidad de los machos se han basado en el ciclo de astas, ya que es un buen indicador indirecto del estado endócrino de los machos (ver Figura 7). En el Parque Nacional Emas (Brasil, 18° S), los machos de *O. b. bezoarticus* presentaron un ciclo anual en la concentración de testosterona fecal, con un pico en verano que corresponde a la estación reproductiva y otro pico en invierno – primavera que coincide con el período de mineralización de las astas y la pérdida de la felpa (Garcia-Pereira et al., 2005). Otros autores plantearon que la calidad de semen en *O. bezoarticus bezoarticus* en Brasil (Pantanal Matogroso y Parque Nacional Emas) es regular en febrero, y baja en julio y setiembre. Sin embargo, de seis animales estudiados en julio, época en la que presentaban astas con felpa, dos produjeron semen de buena calidad (Barbanti-Duarte & García-Pereira, 1997). A diferencia del Parque Nacional Emas, en la ECFA los animales son suplementados durante todo el año, lo que permite desagregar los efectos fotoperiódicos de los alimentarios. Por tanto, la información presentada en esta tesis fue realizada bajo características particulares.

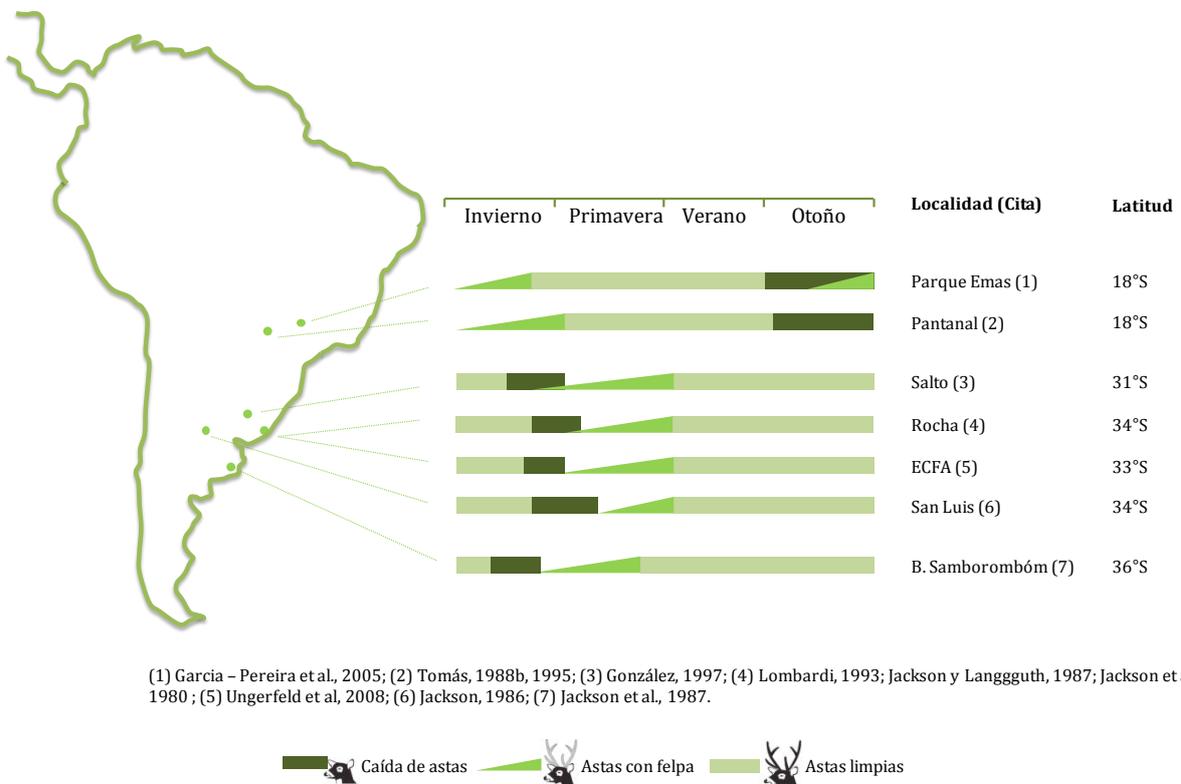


Figura 7. Esquema comparativo del ciclo de astas en las distintas poblaciones de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en Sudamérica.

## 2. Hipótesis

### *2.1 Hipótesis general*

Los machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) presentan estacionalidad reproductiva.

### *2.2 Hipótesis específicas*

Los machos de venado de campo presentan estacionalidad reproductiva diferencial según la edad.

Las medidas corporales aumentan durante la estación reproductiva, siendo mayores en los machos adultos que en los machos juveniles.

La calidad seminal aumenta durante la estación reproductiva, presentando los machos adultos mejor calidad seminal que los machos juveniles.

La caída de las astas ocurre antes en los machos adultos que en los machos juveniles.

Las concentraciones séricas de testosterona son mayores durante la estación reproductiva que en el resto del año, siendo mayor en machos adultos que en los machos juveniles.

Las concentraciones séricas de CK, FAS, fósforo, calcio, magnesio y colesterol aumentan durante la fase de crecimiento de las astas.

Las frecuencias de comportamiento agonista y de marcación aumentan durante la estación reproductiva.

## 3. Objetivos

### 3.1 Objetivo general

Describir la estacionalidad reproductiva en machos adultos y juveniles de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en semicautiverio en el Uruguay suplementados con ración a lo largo del año.

### 3.2 Objetivos particulares

Determinar en grupos de machos adultos (mayores de 5 años) y juveniles (entre 1,5 y 2 año) la variación estacional de:

- Medidas corporales: peso, perímetro de cuello, altura a la cruz, dimensiones testiculares (circunferencia escrotal, volumen testicular) e índice gonado-somático.
- Características seminales: calidad seminal, espermatozoides por eyaculado, motilidad espermática progresiva e individual, porcentajes y cantidades de espermatozoides vivos y con integridad acrosómica.
- Fecha de caída de astas.
- Concentración sérica de testosterona.
- Concentración sérica de CK, FAS, fósforo, calcio, magnesio y colesterol.
- Frecuencia de comportamientos agonistas y de marcación.

## 4. Materiales y Métodos

### 4.1 Condiciones de trabajo

En el Uruguay, dada su latitud (30-35°S), las estaciones están claramente marcadas. La temperatura y precipitación medias reportadas en los últimos 10 años (2000-2009; Dirección Nacional de Meteorología, 2011) proporcionadas por la Dirección Nacional de Meteorología, de la estación meteorológica más cercana (Carrasco, 34°9' S) fueron de 18,4°C y 407,8 mm en otoño, de 12,6°C y 266,0 mm en invierno, de 17,5°C y 330,0 mm en primavera, y de 23,4°C y 360,0 mm en verano. Como se muestra en la Figura 8 la cantidad diaria de horas de luz varió entre las estaciones, llegando a ser máximas al inicio del verano y mínimas al inicio del invierno, siendo los días crecientes en invierno y primavera y decrecientes en verano y otoño.

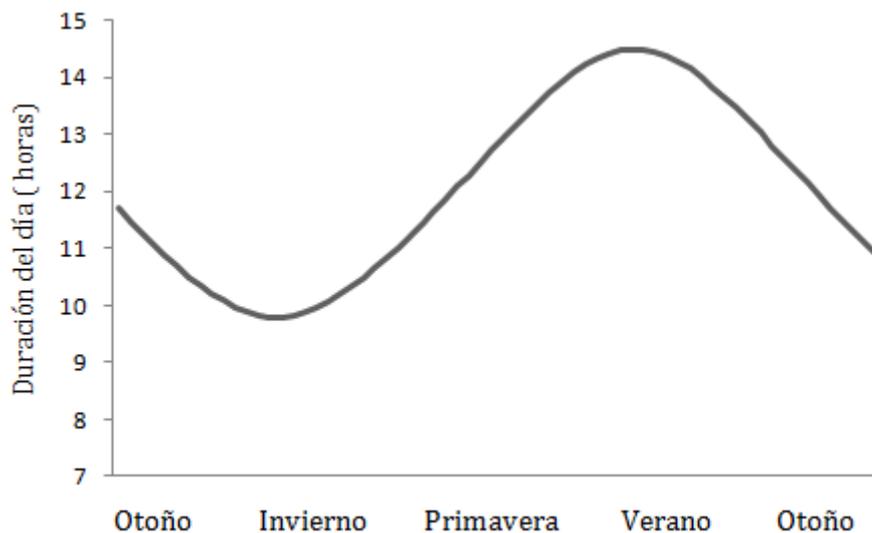


Figura 8. Duración de horas luz diarias desde otoño de 2008 a otoño de 2009, calculadas a partir de la salida y puesta de sol (Sunrise Sunset Calendar, 2011).

El trabajo se realizó con animales de la población de venados de campo de la ECFA. Los animales de esta población se encontraban en un régimen de semicautiverio (ver Figura 3). Los encierros donde habitaban los machos utilizados eran de 0,5 ha, proporcionándoles un ambiente con alimento (pastura y arbustos), abrigo y refugio. Dicha población fue manejada bajo cautiverio desde 1981. Los animales nacidos en la ECFA tenían cierto grado de domesticación, no alterando su conducta ante la presencia humana, lo que facilitó su observación a pocos metros. A pesar de la adaptación al cautiverio por 27 años, los animales nacidos en la ECFA no eran lo suficientemente dóciles como para permitir la realización de maniobras simples. Dado que la mayoría de los cérvidos sufren altos niveles de estrés de captura, los venados eran anestesiados a distancia con dardos para realizar manejos de rutina tales como traslados, curaciones, vacunaciones, caravaneos, o cualquier otro tipo de manejo (cambios de encierro, manejos sanitarios, o cualquier otra manipulación).

Se utilizaron dos grupos de 6 machos de venado de campo, uno de adultos y otro de juveniles, los que tenían más de 5 años y 1,5 a 2 años respectivamente al comienzo del trabajo (otoño de 2008). Ambos grupos de machos se encontraban juntos desde más de un año antes de que comenzara el trabajo. Durante el estudio murió un animal juvenil que sólo formó parte del primer muestreo (otoño de 2008), utilizándose 5 juveniles durante el resto del muestreo (invierno, primavera, verano y otoño de 2009). En el grupo de adultos murieron 2 animales, quedando 5 durante el verano, y 4 en el último muestreo (otoño de 2009). Si bien estos tres animales murieron durante el estudio, ninguna de estas muertes estuvo vinculada a las manipulaciones del trabajo. El estudio comprendió dos tipos de muestreos: por un lado estudios de comportamiento realizados en forma semanal, y por otro, muestreos trimestrales de morfología corporal y de astas, sangre y semen en cada estación. Todos los muestreos comenzaron en el otoño de 2008 y finalizaron en el otoño de 2009.



Figura 9. Distribución de los encierros en los que se alojaban los machos adultos (9) y juveniles (2) de venado de campo en la ECFA.

Los animales se mantuvieron en encierros de aproximadamente 0,5 ha, con las mismas características de manejo realizadas para toda la población de venados de la ECFA. Ambos grupos se manejaron durante todo el trabajo de forma independiente, separados por un encierro de aproximadamente 30 metros de ancho, que alojaba un macho con varias hembras (ver Figura 9). Tanto los machos adultos y como los machos juveniles podían ver y escuchar del encierro vecino. Si bien las dimensiones de los encierros eran adecuadas para la cantidad de animales, gran parte de la superficie del mismo se encontraba ocupado por piedras, árboles y arbustos (ver Figura 9). Además el tipo de suelo era arenoso-pedregoso generando pastura escasa, de mala calidad. Dadas las características del encierro y las variaciones naturales de las pasturas y el espacio de alimentación restringido de que disponían, se les suplementó con ración peleteada de vaca lechera, de lunes a sábado en horas de la mañana, a razón de aproximadamente 600 gr por animal. Dado el nivel de rechazo encontrado, se consideró que la cantidad suplementada era *ad libitum*. La ración era suministrada en varios puntos del encierro de forma que todos los animales tuvieran acceso a la misma y no se limitara el consumo por competencia entre los animales. La individualización de los animales se realizó mediante la visualización de las caravanas.

## *4.2 Caída de astas*

En ambos grupos se registró la fecha de caída de astas para cada animal durante los ciclos 2008-2009, para lo que se observó diariamente a los animales de ambos grupos desde el 01 de julio de 2008. El ciclo de astas es un indicador indirecto del estado endócrino de los machos.

## *4.3 Muestreos estacionales*

Ambos grupos de machos fueron capturados trimestralmente mediante dardos anestésicos lanzados con cerbatana. Dicha manipulación fue necesaria para realizar los muestreos de sangre, semen y morfometría. Se realizaron tres capturas diarias en horas de la mañana, dos días por semana, completando los muestreos de todos los animales en dos semanas.

### *4.3.1 Manejo anestésico*

Los animales fueron capturados utilizando un dardo disparado con una cerbatana (Telinject, California, EEUU), cargado con 1,6 mg/kg de ketamina al 5% (Vetanarcol, Laboratorios König, Buenos Aires, Argentina), 0,2 mg/kg de xilacina al 10% (Sedomun, Laboratorios König, Buenos Aires, Argentina) y 0,013 mg/kg de atropina al 1‰ (Sulfato de Atropina, Laboratorio Ion, Montevideo, Uruguay) (Flanch, 2003; Umpathy et al., 2007; Muir et al., 2008). El día anterior a la captura no se les suministró ración a los animales para facilitar el acercamiento de los animales al lugar de la captura. El alcance de la cerbatana era de 4 metros y el disparo fue dirigido a grande masas musculares, preferentemente los glúteos. El dardo fue cargado y lanzado por el personal de la ECFA, encargado del manejo anestésico de los animales. Luego que el animal cayó bajo el efecto anestésico fue trasladado mediante una camilla a la sala veterinaria, situada a pocos metros de los encierros (Figura 9). En la misma fueron pesados, y se monitorearon los signos vitales de forma continua (frecuencia cardíaca, pulso y presión parcial de oxígeno en sangre). Ya con el animal estable se procedió a la extracción de muestras, mediciones corporales y electroeyaculación. El protocolo correspondiente fue aprobado por la Comisión de Bioética de la Facultad de Veterinaria.

Una vez finalizadas todas la manipulaciones, los animales fueron trasladados aún bajo anestesia a su encierro, donde se les administró 0,26 mg/kg de clorhidrato de yohimbina

(Reverze, Laboratorio Vetcross, Montevideo, Uruguay; Flanch, 2003) vía intravenosa yugular para revertir el efecto anestésico. Esto fue necesario para asegurar la recuperación de los animales, previniendo así que los demás animales del grupo al observar un individuo caído y vulnerable pudieran atacarlo.

#### *4.3.2 Morfometría*

Se registró el peso corporal mediante una balanza con el animal anestesiado. Con una cinta métrica se midió el perímetro de cuello, el largo del miembro anterior (distancia desde la pezuña hasta la columna con el miembro extendido), y la circunferencia escrotal. El largo, ancho y profundidad de cada testículo fue medido con un calibre, y posteriormente se calculó el volumen testicular total considerándolo como un elipsoide ( $V=L \times A \times P \times 4/3\pi$ ). A partir del peso corporal y el volumen testicular se calculó el índice gonado-somático (volumen testicular/peso corporal). Dichas mediciones fueron consideradas para observar las variaciones morfológicas estacionales de los machos adultos, y el efecto del crecimiento y la estación en los machos juveniles.

#### *4.3.3 Extracción y procesamiento de sangre*

Se realizó la venopunción de la vena antebraquial con un catéter. Se extrajo una muestra de sangre antes de comenzar la electroeyaculación, se colocó la sangre en un tubo seco y se centrifugó por 15 minutos a 3500 rpm para extraer el suero. Los sueros se mantuvieron a -20°C hasta la realización de las mediciones bioquímicas y de testosterona.

#### *4.3.4 Electroeyaculación*

La electroeyaculación se realizó con un electroeyaculador (P-T electronic, modelo 303, Oregon, EEUU) equipado con un vástago de 30 cm de largo y 1,9 cm de diámetro, con tres electrodos longitudinales de 3 cm de largo. Se realizaron estimulaciones eléctricas en series de 3-5 segundos de 10 pulsos, desde 1 V hasta provocar la eyaculación (lo que siempre fue con voltajes menores a 8 V), en forma creciente.

#### 4.3.5 Semen

Del eyaculado se evaluó el color, consistencia y pH, para determinar si la muestra tenía las características de un eyaculado normal o se había contaminado con orina. Posteriormente se midió el volumen mediante micropipeta (Gibson, Valle del Oise, Francia). Para su evaluación se extrajeron 5µl de semen, que fueron colocados sobre un vidrio portaobjetos, y sobre dicha muestra se colocó un vidrio cubreobjetos de 18x18 mm, ambos previamente atemperados en platina térmica a 37°C. Mediante microscopio óptico con contraste de fases, a un aumento de 400x (Nikon eclipse E200, China) se evaluó la calidad seminal (escala: 0- sin motilidad; 1- movimiento débil de la cola, sin movimiento hacia adelante; 3- movimiento progresivo o hacia adelante moderado; 4- movimiento rápido; 5- movimiento muy rápido; 4 y 5 son movimiento progresivo, recto, sin curvas; Soler et al., 2003), el porcentaje de espermatozoides motiles, y el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva individual (Evans & Maxwell, 1990).

Sobre un frotis de cada muestra extraída se aplicó la técnica de eosina-nigrosina, también llamada técnica de “vivos-muertos”, en la que los espermatozoides muertos se tiñen de rosa. Para esto se colocaron 5µl de semen en un portaobjetos y se le agregaron 10µl de la solución de tinción. Se homogenizó durante 30 segundos y se realizó el extendido, dejándolo secar sobre la platina térmica. Para la evaluación se observó el extendido mediante microscopio óptico con objetivo de inmersión a un aumento de 1000x. Se realizó el conteo de 200 espermatozoides discriminando los teñidos, coloreados de rosa (positivos a la técnica, espermatozoides muertos), y los que no presentaron coloración (negativos a la técnica, espermatozoides vivos; Ax et al., 2002). El resultado se expresa como porcentaje de espermatozoides vivos.

Se fijaron 5µl de semen en 45µl de glutaraldehído con buffer cacodilato (dilución 1/9) para determinar la concentración (espermatozoides/mL). De la misma fijación se evaluó el porcentaje de espermatozoides con anomalías morfológicas totales, y con integridad acrosómica (Noakes et al., 2001), y se calculó el total de espermatozoides por eyaculado, total de espermatozoides con acrosomas íntegros, vivos, normales, motiles y con motilidad progresiva. Tanto para la evaluación de morfología como acrosomía se observaron 100 – 200 espermatozoides según el grado de dilución de la muestra, mediante microscopio óptico con

contraste de fases a un aumento de 400x. Para el caso de la integridad acrosómica, los espermatozoides se clasificaron en normales, dañados o perdidos. Esta evaluación no se realizó en otoño del primer año, por lo que los resultados se presentan a partir del invierno.

Las características seminales fueron incluidas en el trabajo como un indicador del estatus reproductivo de los animales.

#### *4.3.6 Testosterona*

Se determinó la concentración sérica de testosterona por radio inmunoanálisis de fase sólida (Count-A-Count TKPG, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EEUU). La sensibilidad fue de 0,34 nmol/L, y el coeficiente de variación para los controles bajos fue de 5,7% y para los controles altos de 9,2 %. Las mediciones fueron realizadas en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria (Montevideo, Uruguay)

#### *4.3.7 Bioquímica sanguínea*

Mediante un analizador clínico (Winter lab. Metrolab 1600 DR, Buenos Aires, Argentina) se determinó la concentración sérica de FAS, CK, calcio, fósforo, magnesio y colesterol. Las mediciones de FAS, CK, fósforo y magnesio se realizaron mediante un kit comercial del laboratorio Spinreact (Girona, España). Para el colesterol se utilizó un kit comercial del laboratorio BioSystem (Barcelona, España). La concentración de calcio fue medida con dos kits comerciales, de los laboratorios Human (Weisbaden, Alemania) y Spinreact (Girona, España), pero en ambos el rango de dispersión de los datos fue muy alto (Human: mínimo=2,1 mg/dL, máximo=19,5 mg/dL; Spinreact: mínimo=2,9 mg/dL, máximo=17,0 mg/dL). En venado de campo los valores de calcio son de  $9,3 \pm 0,9$  mg/dl (mín: 7,8 mg/dL, máx: 10,7 mg/dL; Uhart et al., 2003), valores que coinciden con lo reportado para otros cérvidos (dama =  $9,2 \pm 0,5$  mg/dL, English & Lopherd, 1981; cola blanca =  $8,5 \pm 0,1$  mg/dL, Morris & Bubenik, 1983; axis =  $9,6 \pm 0,4$  mg/dL, Chapple et al., 1991). Los valores de calcio obtenidos en nuestro trabajo no coinciden y presentan una dispersión mayor que lo reportado para ésta y otras especies de mamíferos, fuera de los rangos compatibles con la vida. En base a esto, y considerando que las metodologías empleadas no permitieron cuantificar adecuadamente la concentración plasmática de calcio en esta especie, los datos no

fueron considerados. Todos los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinarias (Montevideo, Uruguay).

#### 4.4 Registros comportamentales

Desde el otoño de 2008 al otoño de 2009 se realizaron observaciones semanales en ambos grupos de machos, un día por semana durante dos horas diarias (una en la mañana, previo al suministro de ración, y una hora en la tarde), totalizando 224 horas de registro.

En las observaciones se registraron todos los eventos de comportamientos agonísticos y de marcación realizados en el grupo. El criterio utilizado para determinar si existió un comportamiento agonístico, fue la observación del desplazamiento físico de un animal a otro utilizando alguno de los comportamientos agonísticos previamente descritos (Delbene et al., 2009):

- *Mirar*: el macho dominante mantiene la mirada fija en otro individuo, pudiendo estar el subordinado pastando o realizando otra actividad.
- *Presencia*: el movimiento de un macho causa el desplazamiento (alejamiento) de uno o más individuos.
- *Dirigir astas*: apuntar las astas hacia otro individuo bajando la cabeza, pudiendo realizarse de pie, echado, caminando o corriendo.
- *Perseguir*: un individuo camina o corre detrás de otro causando su desplazamiento, pudiendo hacerlo “Dirigiendo astas”, dependiendo del tenor de la agresión puede emitir vocalizaciones (resoplidos).
- *Trabar*: dos machos entrelazan sus astas por segundos, y luego se separan; suelen mantener los miembros anteriores separados y extendidos, pudiendo precederse por “Dirigir astas”.
- *Pelea*: dos machos luego de “Trabar” se empujan, pudiendo mantenerse en el lugar, desplazarse en línea recta o girar, en cualquier caso siempre sin separar las astas; puede durar desde segundos a minutos, interrumpirse brevemente y retomarse.

- *Embestir*: posteriormente a “Perseguir” el animal golpea con las puntas de las astas a otro en el flanco o grupa;
- *Boxeo*: erguido sobre los miembros posteriores un macho (o ambos machos) golpea a otro con los miembros anteriores agitándolos, pudiendo hacerlo después de “Perseguir”.

Para el registro de los comportamientos de marcación se consideraron los previamente descritos por Delbene *et al.* (2008):

- *Orinar*: orinar separando los miembros posteriores y bajando la pelvis. Posteriormente puede oler y/o lamer el suelo, el pene y realizar flehmen.
- *Refregar astas* (Refregar): mediante sacudidas de la cabeza frota la punta de las astas contra pastos y/o arbustos.
- *Refregar base de astas* (Base): con movimientos de la cabeza hacia arriba y abajo, deslizando la base de las astas contra troncos y postes. En general deja una marca apreciable a distancia. Antes o después puede olfatear y/o lamer el lugar marcado.
- *Ocular*: apoyar y frotar la glándula ocular (ubicada a medial de las astas) contra ramas u hojas. Puede realizarse erguido sobre sus patas traseras, manteniendo el cuello extendido. Previo o posteriormente, suele lamer y oler el sustrato, así como “Refregar astas”.
- *Digital*: manteniendo el cuello por debajo de la cruz y levantando la cola, raspa el suelo con una extremidad delantera deslizándola hacia atrás varias veces. Puede repetirse utilizando el otro miembro. Posteriormente puede “orinar” en el lugar marcado.

Todos los comportamientos fueron registrados por un solo observador, tomando nota y/o filmando en los casos en que los comportamientos fueron demasiado frecuentes para ser registrados en tiempo real. En el caso de ser necesario se utilizaron binoculares para el registro.

Si bien los muestreos fueron semanales, las frecuencias de comportamiento se agruparon por estación, incluyendo los registros de entre 45 y 60 días antes y después de

realizadas las capturas. Por tanto se tomaron los siguientes fechas como comienzo y final de la estación: del 20 de marzo al 30 de mayo (otoño 2008), del 6 de junio al 17 agosto (invierno), del 25 de agosto al 9 de noviembre (primavera), del 15 de noviembre al 7 de febrero (verano), y del 15 de febrero al 24 de abril (otoño de 2009).

#### *4.5 Análisis estadístico*

Para las variables continuas (morfológicas, concentraciones en sangre) se testeó la normalidad y homocedasticidad de los datos, para luego compararlos mediante ANOVA para mediciones repetidas, considerando en el modelo la estación y la categoría del individuo (adultos y juveniles), y la interacción entre ambas. En el caso del total de espermatozoides por eyaculado, total de espermatozoides con acrosomas íntegros, vivos, normales, motiles y con motilidad progresiva, se realizó una transformación logarítmica para normalizar los datos y luego compararlos mediante ANOVA para mediciones repetidas por el procedimiento PROC MIXED de SAS. La fecha de caída de las astas de machos adultos y juveniles se comparó mediante ANOVA. Las frecuencias de los diferentes comportamientos se analizaron por chi cuadrado según la categoría y estación. Se consideró un  $\alpha=0,05$ .

Las variables continuas se presentan como media  $\pm$  EE, las frecuencias de comportamiento por estación como medianas  $\pm$  semirecorrido intercuartílico. Al desglosarlas según el tipo de comportamiento en cada estación y categoría se presentan como porcentajes respecto al total de los comportamientos.

*“para penetrar en los secretos de la Naturaleza  
hay que perderle el miedo a las cifras”  
Bruno Bürgel*

## **5. Resultados**

### *5.1 Caída de astas*

No se encontraron diferencias en la fecha de caída de astas entre los animales adultos y juveniles durante los ciclos de astas de los años 2008 y 2009. En el 2008 las astas cayeron a los  $23,7 \pm 2,9$  días de julio (adultos =  $26,0 \pm 2,8$  días; juveniles =  $21,8 \pm 3,1$  días) y en el 2009 a los  $27,2 \pm 3,5$  días de julio (adultos =  $26,4 \pm 3,1$  días; juveniles =  $28,4 \pm 4,1$  días).

### *5.2 Morfología*

El peso corporal (Figura 10a), varió en relación a la estación del año ( $P = 0,03$ ), registrándose los menores pesos en primavera (adultos) y otoño-invierno (juveniles). El peso corporal de los adultos fue mayor que el de los juveniles ( $P = 0,003$ ), y hubo una interacción entre la categoría y la estación ( $P = 0,003$ ). Al comienzo del muestreo los animales adultos partieron de pesos mayores que los juveniles, pero un año más tarde los pesos no fueron diferentes.

Al igual que el peso corporal, el perímetro del cuello varió en relación a la categoría ( $P = 0,03$ ), y a la fecha de muestreo ( $P < 0,0001$ ), y hubo una interacción entre edad y estación ( $P = 0,016$ ). Los animales juveniles tuvieron un perímetro de cuello inferior a los adultos (Figura 10b). El perímetro del cuello de los machos juveniles aumentó hasta el invierno llegando a valores similares a los de los machos adultos. Los valores de perímetro de cuello para ambas categorías cayeron en la primavera, para luego aumentar paralelamente hasta el otoño. Los machos juveniles siguieron teniendo perímetros menores que los machos adultos en el

siguiente otoño ( $P = 0,048$ ). En la altura a la cruz se encontró un efecto de la categoría ( $P = 0,0006$ ) y de la estación ( $P = 0,007$ ), no existiendo interacción estación – categoría (Figura 10c).

Ninguna de las variables testiculares presentó diferencias entre machos adultos y juveniles, ni interacción entre estación y categoría, por lo que los datos se presentan agrupados. Tanto la circunferencia escrotal ( $P < 0,0001$ ), como el volumen testicular ( $P < 0,0001$ ), y el IGS tuvieron variaciones estacionales ( $P < 0,0001$ ). El volumen testicular y el IGS presentaron su máximo en otoño y verano, siendo mínimo en primavera, tomando valores intermedios en el invierno (Figura 11a,b). La circunferencia escrotal presentó los menores valores durante el otoño del primer año, el invierno y primavera, aumentando en verano y en el otoño del siguiente año (Figura 11c).

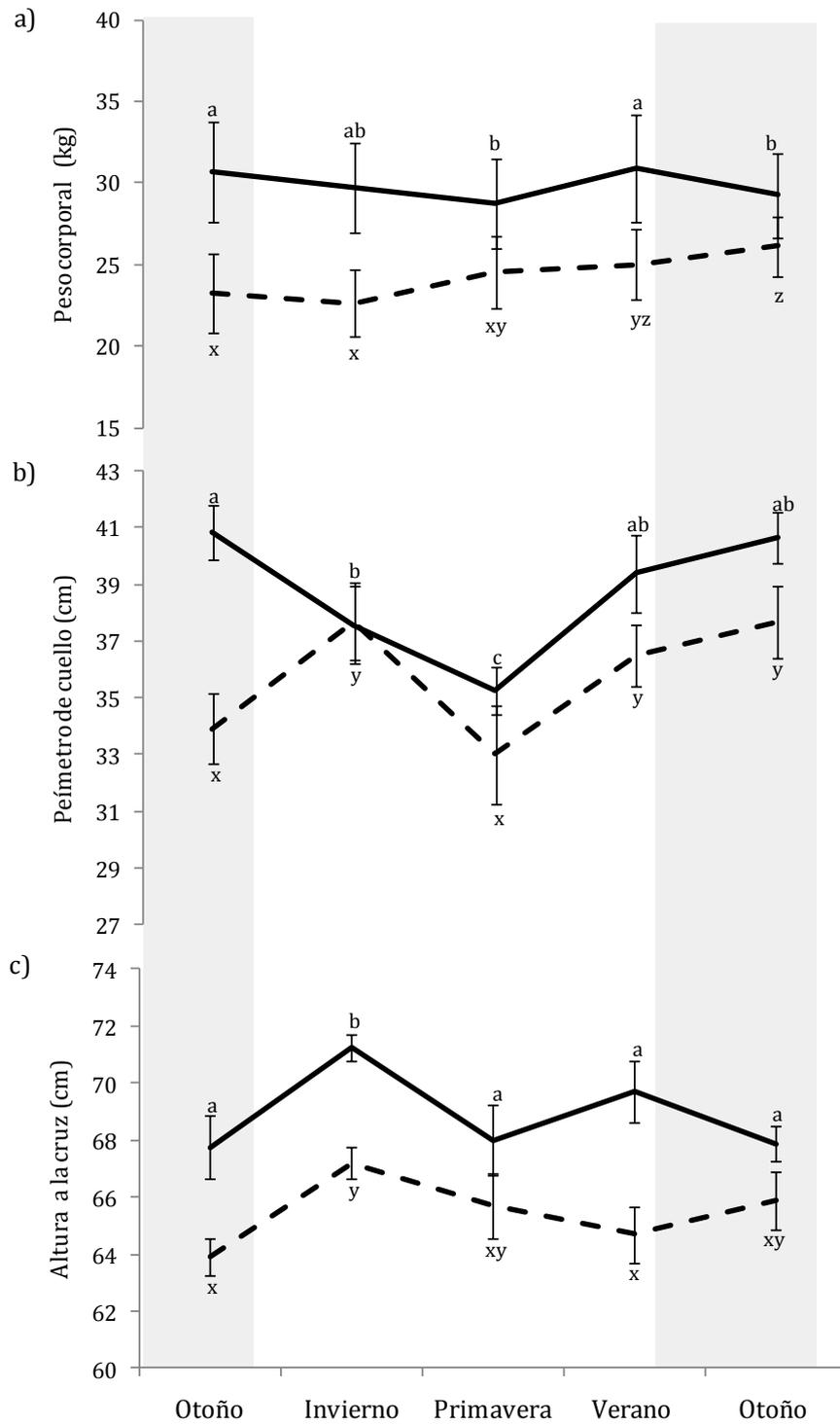


Figura 10. (a) Peso corporal, (b) perímetro de cuello, y (c) altura a la cruz en machos de venado de campo adultos (línea continua) y juveniles (línea discontinua). Valores que no se acompañan por una misma letra corresponden a diferencias entre estaciones en adultos (a,b,c,d) y juveniles (x,y,z). Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

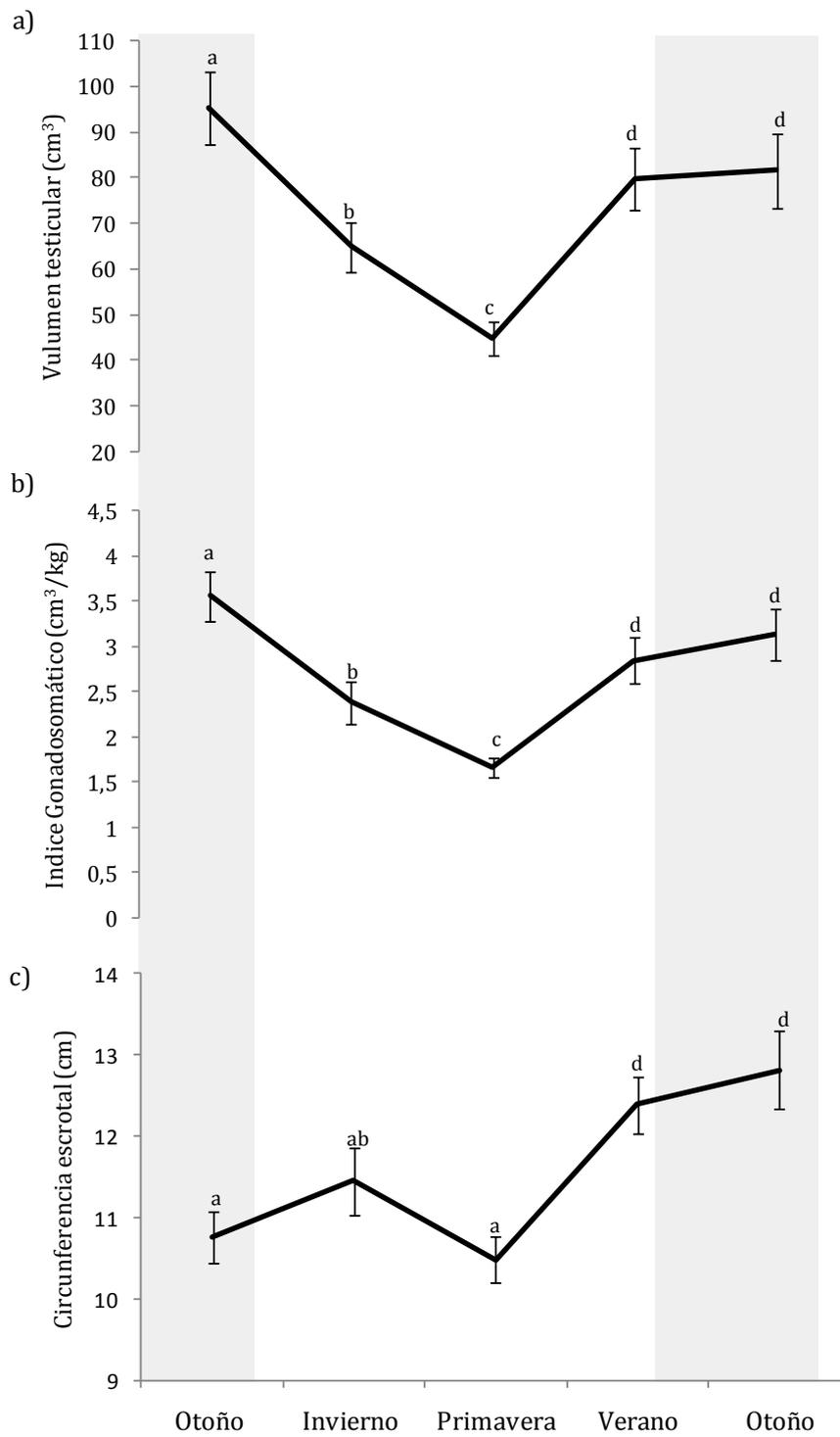


Figura 11. Volumen testicular (a), índice gonado-somático (b) y circunferencia escrotal (c), en machos de venado de campo. Letras diferentes indican diferencias entre estaciones. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

### 5.3 Semen

En ningún parámetro seminal estudiado se encontró diferencia entre categorías, ni interacción entre fecha y categoría, por lo que todos los datos se presentan agrupados por fecha. Tanto el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva ( $P = 0,018$ , Figura 12a), como la calidad espermática ( $P = 0,002$ , Figura 12b), variaron de acuerdo a la estación, observándose los mínimos en primavera y los máximos en otoño - verano. El porcentaje de espermatozoides vivos también varió de acuerdo a las estaciones ( $P = 0,05$ , Figura 12c), presentando el máximo en verano, manteniéndose constante el resto del año. El porcentaje de espermatozoides con anormalidades presentó un patrón estacional ( $P = 0,009$ ; Figura 12d), siendo máximo en primavera, permaneciendo constante el resto del año. El porcentaje de espermatozoides móviles no presentó variación, ni de categoría ni estacional, presentando una media anual de  $59,1 \pm 2,9 \%$ .

El total de espermatozoides por eyaculado fue afectado por la estación ( $P = 0,04$ ), presentando los menores valores durante el otoño del primer año, invierno y primavera, y los mayores en el verano y el otoño del segundo año (Figura 13). La cantidad total de espermatozoides motiles, con motilidad progresiva, espermatozoides vivos y normales, y las cantidad de acrosomas normales en el eyaculado variaron estacionalmente ( $P = 0,04$ ;  $P = 0,01$ ;  $P = 0,03$ ;  $P = 0,03$ ,  $P = 0,03$  respectivamente), siendo mínimos en primavera y máximos en verano-otoño del segundo año, presentando valores intermedios en invierno (Figuras 13 y 14). Ninguna de las variables fue afectada por la categoría, ni presentó interacción entre estación y categoría, por lo que los datos se presentan agrupados por estación.

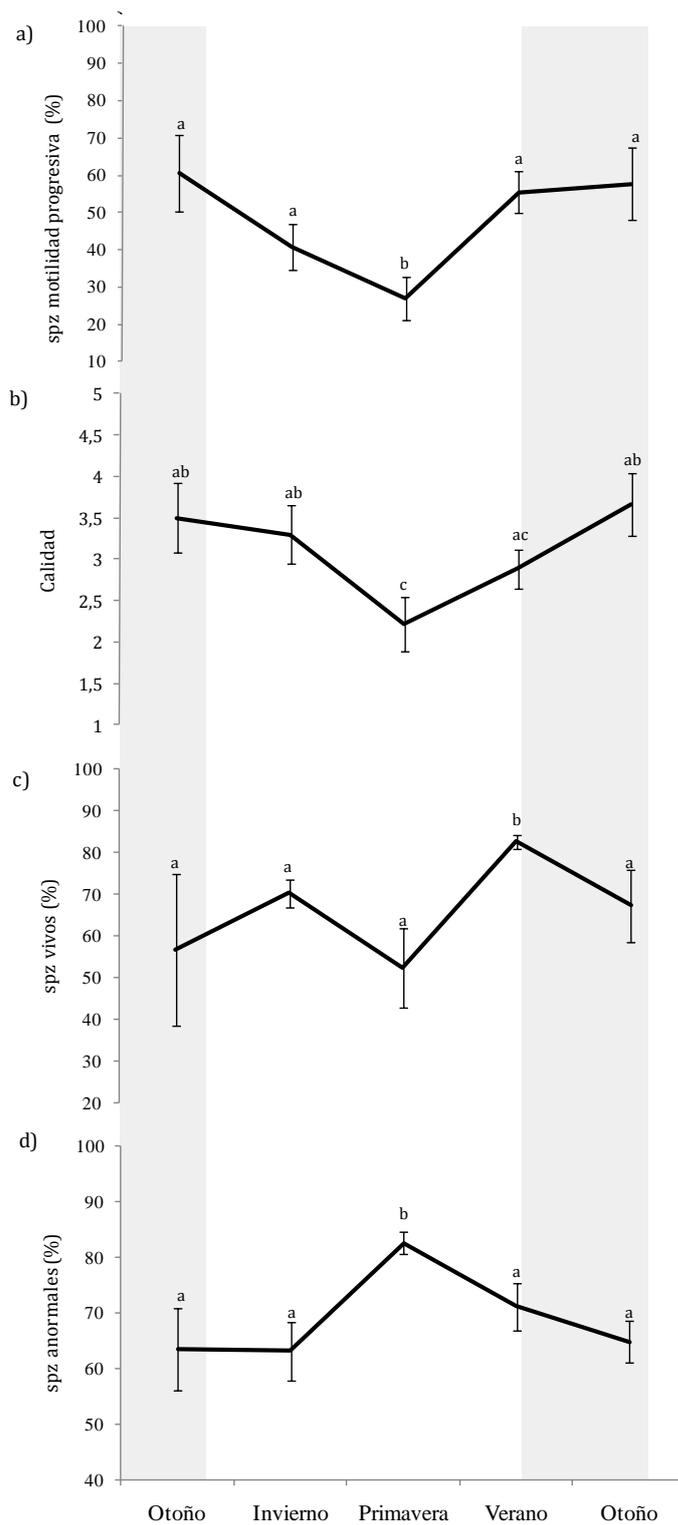


Figura 12. Parámetros seminales: motilidad progresiva (a), calidad (b) espermatozoides vivos (c), y espermatozoides anormales (d) en machos de venado de campo. Letras diferentes indican diferencias entre estaciones. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

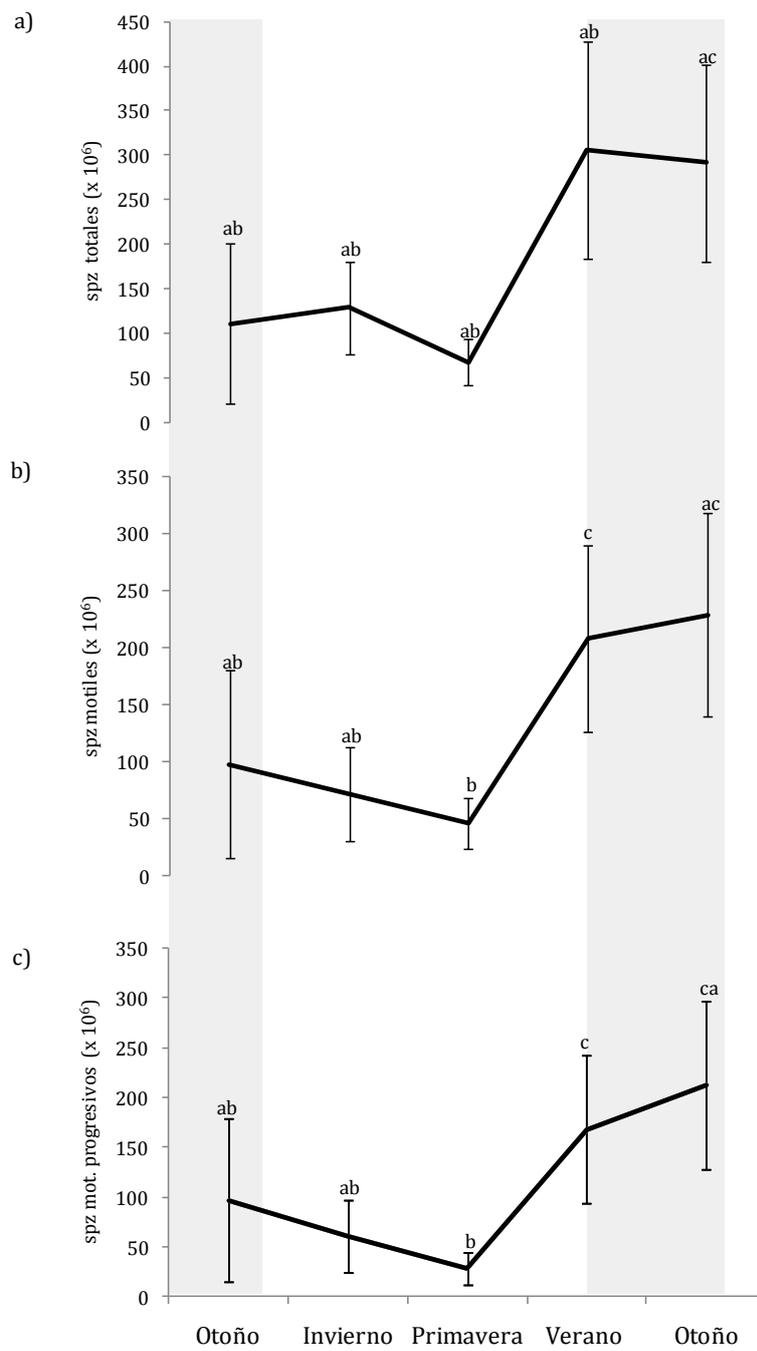


Figura 13. Espermatozoides totales por eyaculado (a), motiles (b) y con motilidad progresiva (c), en machos de venado de campo. Letras diferentes indican diferencias entre estaciones. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

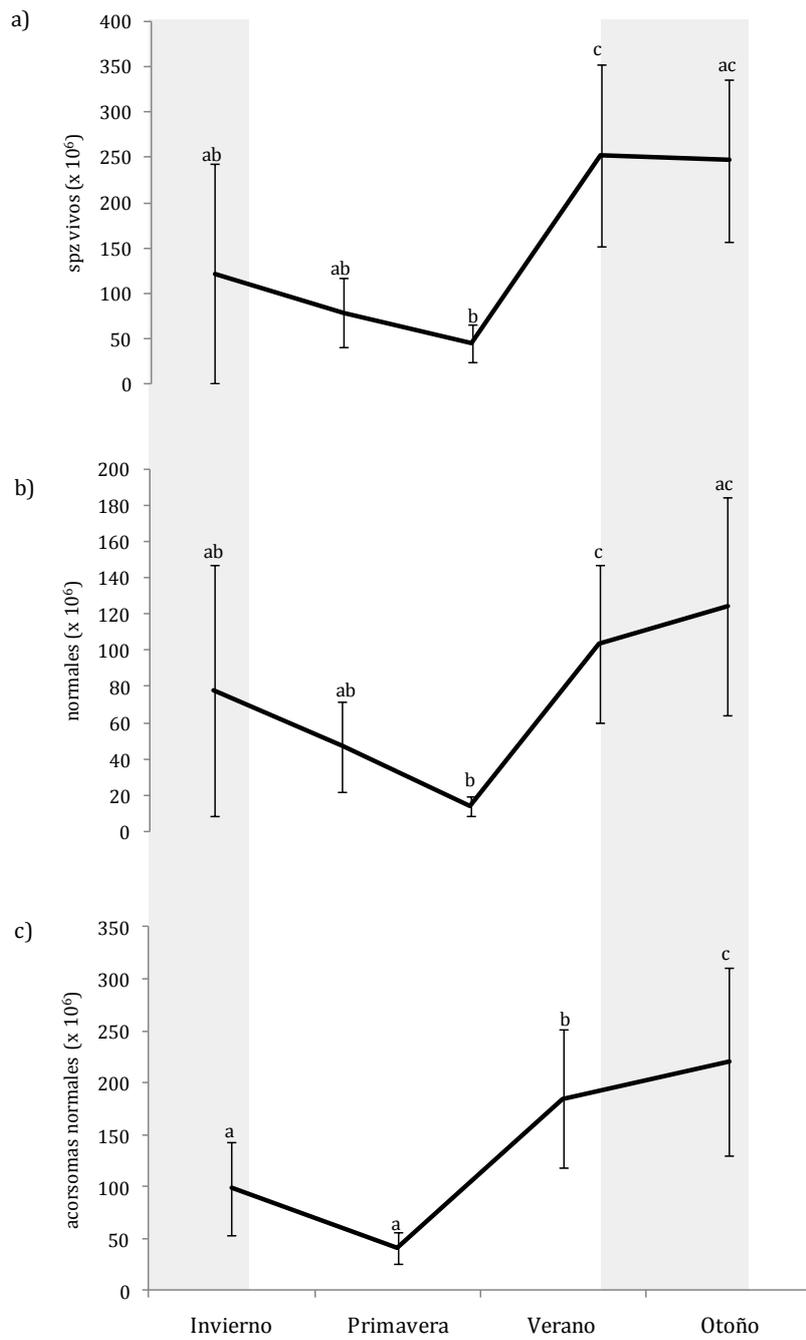


Figura 14. Cantidad de espermatozoides vivos (a), normales (b) y con acrosomas normales (c), en machos de venado de campo. Letras diferentes indican diferencias entre estaciones. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

El porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales, dañados ó perdidos no varió entre categorías. El porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales varió según la fecha ( $P = 0,0016$ ), observándose más espermatozoides con acrosomas normales en otoño y menos en primavera, siendo intermedio en invierno y verano, existiendo una tendencia en la interacción entre estación y categoría ( $P = 0,075$ ). El porcentaje de espermatozoides con acrosomas dañados también varió según la estación del año ( $P = 0,0002$ ), teniendo un patrón inverso a los normales, con los porcentajes máximos en primavera, mínimos en otoño, e intermedios en invierno y verano. El porcentaje de espermatozoides con acrosomas perdidos presentó una tendencia ( $P = 0,067$ ) a variar en forma estacional (Figura 15). La cantidad total de espermatozoides con acrosoma normal en el eyaculado varió estacionalmente ( $P = 0,02$ ), siendo mínima en invierno y primavera, aumentando en verano y siendo máxima durante el otoño (Figura 15).

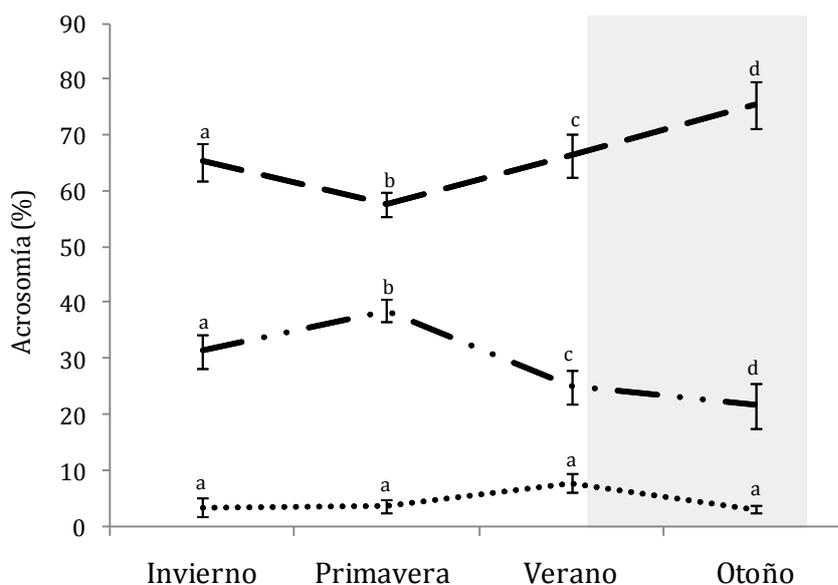


Figura 15. Porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales (---), dañados (-.-) y perdidos (.....) en machos de venados de campo en las diferentes estaciones del año. Valores que no se acompañan por una misma letra corresponden a diferencias entre estaciones. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

#### 5.4 Concentración de testosterona

La concentración sérica de testosterona varió de acuerdo a la fecha ( $P = 0,0001$ ), existiendo diferencias entre categorías ( $P = 0,032$ ), además de existir una interacción entre categoría y estación ( $P = 0,005$ ) (Figura 16). Los machos adultos presentaron las menores concentraciones en invierno y primavera, las mayores en otoño, e intermedias en el verano. Por su parte, los machos juveniles presentaron las menores concentraciones en invierno, presentando valores similares el resto del año.

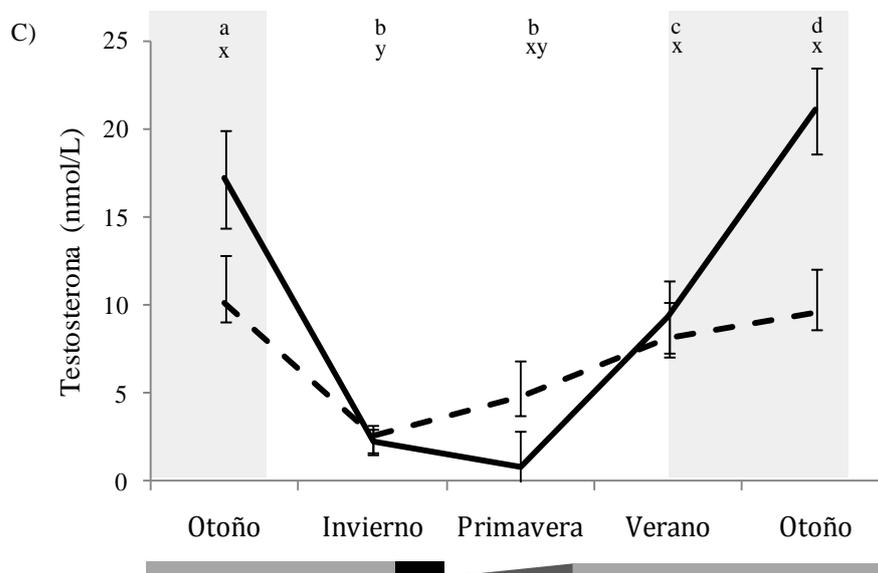


Figura 16. Concentración sérica de testosterona en machos, adultos (línea continua) y juveniles (línea discontinua). Letras diferentes indican diferencias entre estaciones en adultos (a,b,c,d) y juveniles (x,y). Las columnas grises indican la época de celos en la misma población. La barra horizontal indica el ciclo de astas de los mismos animales (gris: astas óseas; negro: caída de astas; triángulo: crecimiento de astas).

### 5.5 Bioquímica sanguínea

En ninguno de los parámetros bioquímicos estudiados se encontró diferencias significativas en relación a las categorías, ni interacción entre estación y categoría, observándose únicamente una tendencia a mayores valores de la enzima CK en los machos juveniles ( $P = 0,094$ , Figura 17a). En el caso de la FAS hubo un efecto estacional ( $P = 0,0015$ ), observándose los mayores valores en primavera, y valores bajos o intermedios en el resto de las estaciones (Figura 17b). La concentración de fósforo varió de acuerdo a las estaciones ( $P = 0,0012$ , Figura 18a), existiendo además una tendencia a una interacción entre la estación y la categoría del animal ( $P = 0,055$ ). No se observó efecto de la categoría o la estación en la concentración de magnesio, aunque esta última presentó un valor de  $P$  muy cercano a la tendencia ( $P = 0,105$ , Figura 18b). Las concentraciones de colesterol variaron de acuerdo a las estaciones ( $P < 0,0001$ ), observándose un aumento en invierno, llegando a valores máximos en primavera, manteniéndose constante el resto del año (Figura 18c).

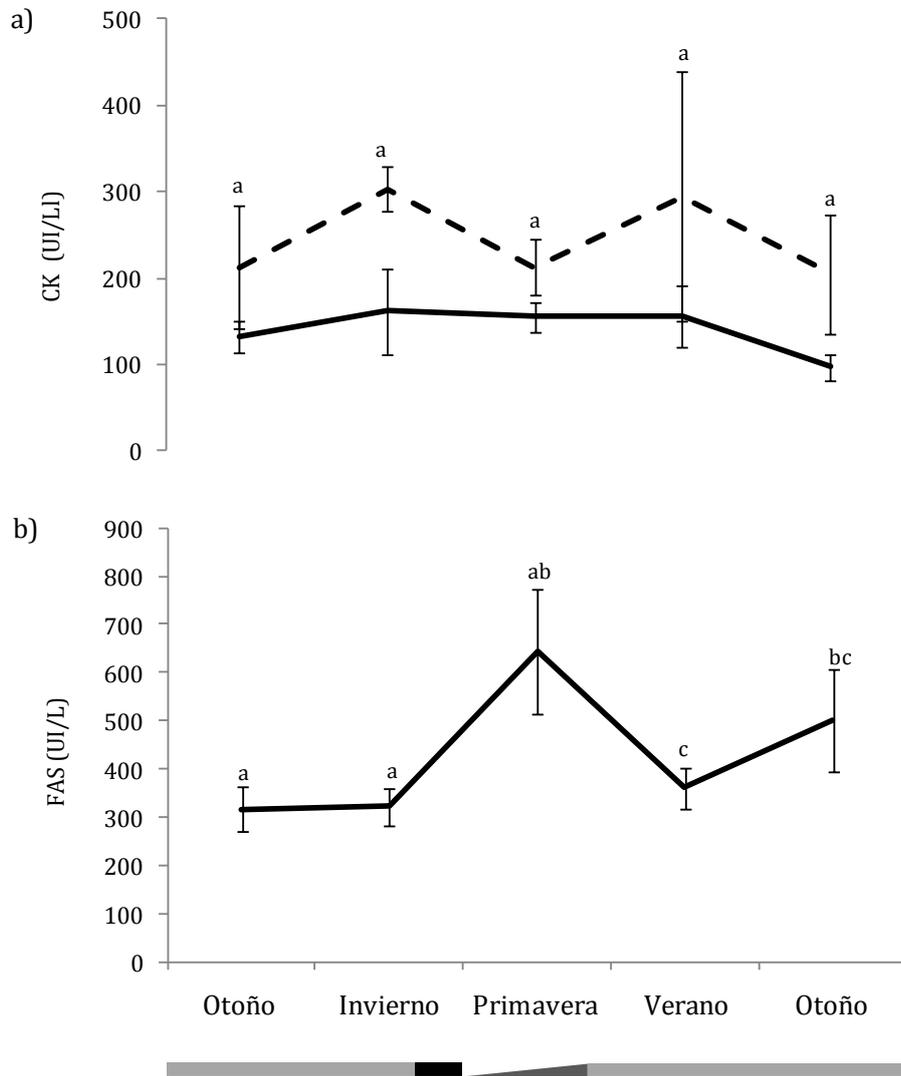


Figura 17. Concentraciones de CK (a) y FAS (b) en machos de venado de campo. Adultos (línea continua) y juveniles (línea discontinua). Valores que no se acompañan por una misma letra corresponden a diferencias entre estaciones. La barra horizontal indica el ciclo de astas (gris: astas óseas; negro: caída de astas; triángulo: crecimiento de astas).

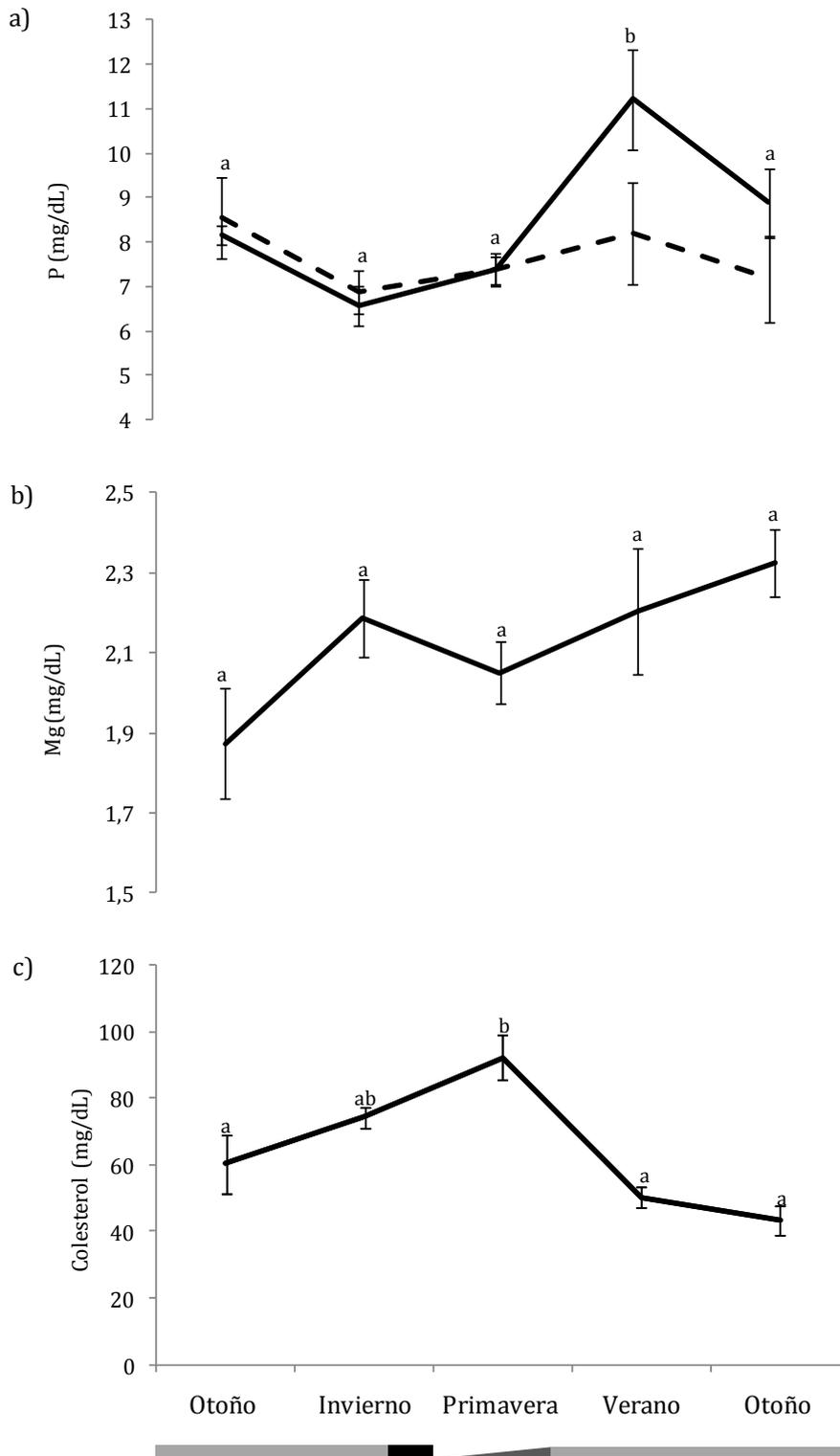


Figura 18. Concentraciones de fósforo (a), magnesio (b), y colesterol (c) en machos de venado de campo. Letras diferentes corresponde a diferencias entre adultos (línea continua) y juveniles (línea discontinua) y/o para cada estación. La barra horizontal indica el ciclo de astas (gris: astas óseas; negro: caída de astas; triángulo: crecimiento de astas).

## 5.6 Comportamiento

Las frecuencias de los diferentes comportamientos son presentados en forma descriptiva. Se puede ver en la Figura 19 que existió un patrón estacional en la frecuencia de comportamientos agonistas, tanto en los animales adultos como en los juveniles. Ambos presentaron mayor frecuencia de actividades en otoño, y menor en primavera. Los machos juveniles tuvieron menor actividad que los machos adultos, siendo más marcadas estas diferencias durante el invierno y el verano.

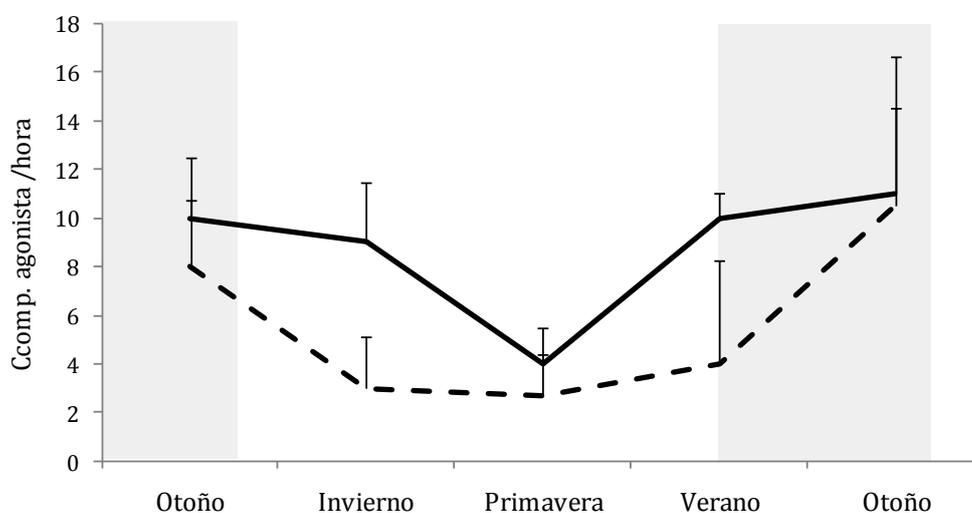


Figura 19. Frecuencia de comportamientos agonistas en machos adultos (línea continua) y juveniles (línea discontinua) de venado de campo. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

El tipo de comportamiento agonista utilizado difirió entre machos adultos y juveniles en cada estación, existiendo diferencias en el uso de los tipos de interacción en ambos otoños ( $P < 0,0001$ ; Figura 20 a y e) y primavera ( $P = 0,037$ ; Figura 20 c), existiendo una tendencia en invierno ( $P = 0,074$ ; Figura 20b) y verano ( $P = 0,12$ ; Figura 20d). En ambos otoños la unidad de comportamiento más utilizada por los adultos fue la “presencia” y en los juveniles fue “trabar”. Además, en el otoño del segundo año “dirigir astas” fue más frecuente en los juveniles y el comportamiento “perseguir” en los adultos.

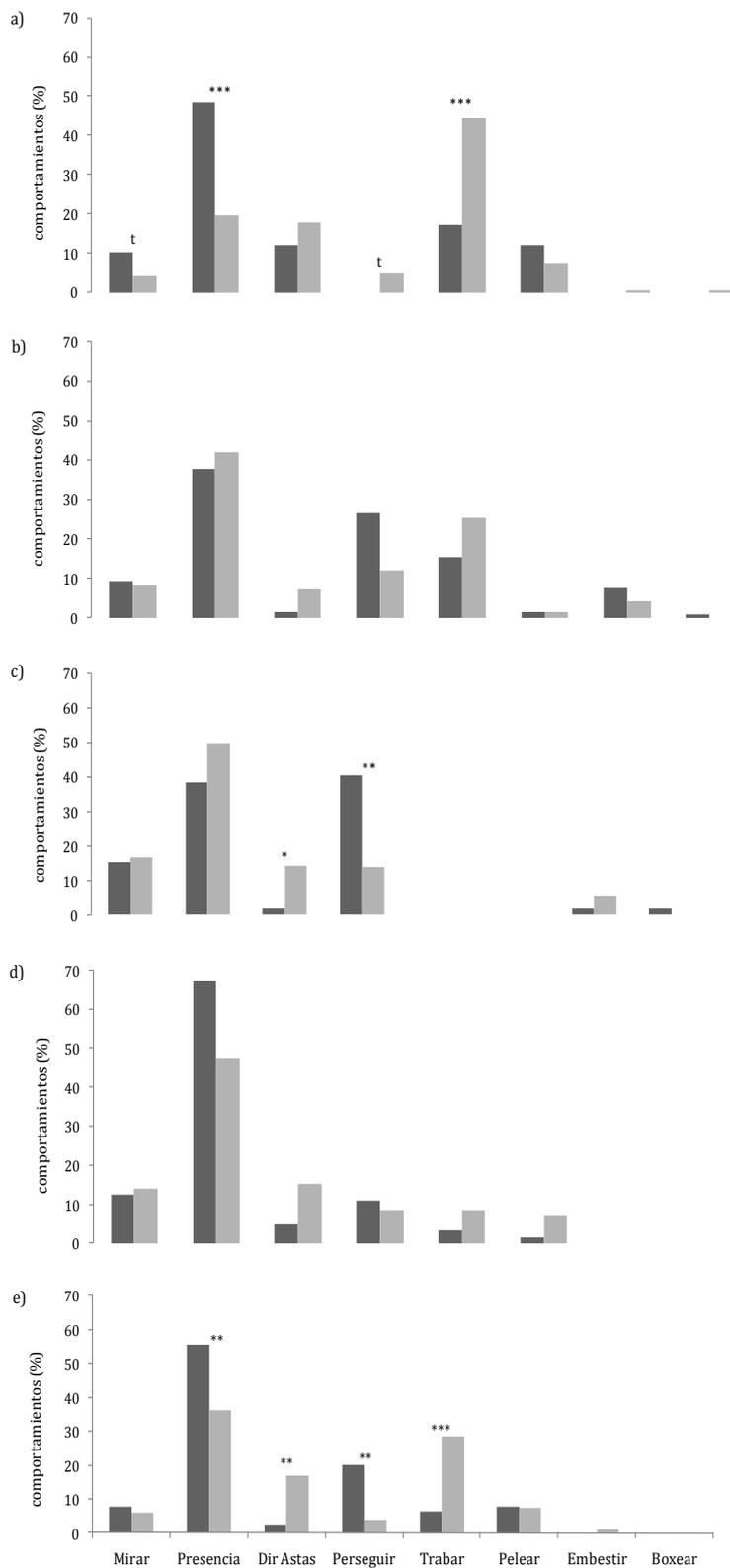


Figura 20. Comportamientos agonistas en adultos (barras oscuras) y juveniles (barras claras) en otoño (a), invierno (b), primavera (c), verano (d) y el siguiente otoño (e) en machos de venado de campo. \*\*\*P<0,001; \*\*P<0,01; \*P<0,05; t= tendencia.

Durante la primavera no se registró ninguna ocurrencia de las unidades “trabar” y “pelear” ni en adultos ni en juveniles. Existieron diferencias entre categorías en la frecuencia relativa de “perseguir” (más frecuente en los adultos) y “dirigir astas” (más frecuente en los juveniles), mientras que “mirar”, “presencia”, “embestir” y “boxear” fueron utilizadas en cantidades similares por ambas categorías.

El comportamiento de marcación se diferenció entre categorías principalmente durante el primer otoño, siendo más frecuente la actividad en los animales juveniles. Los machos adultos presentaron mayor actividad durante el invierno, y frecuencias similares en el resto de los muestreos en ambas categorías (ver Figura 21).

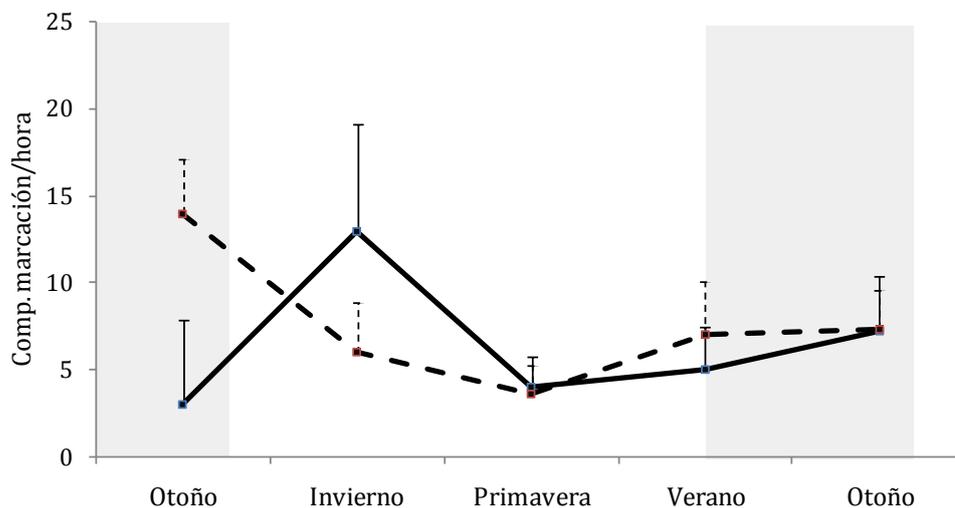


Figura 21. Frecuencia de comportamientos de marcación en machos adultos (línea continua) y juveniles (líneas discontinuas) de venado de campo. Las columnas grises indican la época de celos en la misma población.

En relación al tipo de comportamiento de marcación utilizado en las diferentes categorías en cada estación, se observaron diferencias durante el otoño del primer año ( $P = 0,0007$ ), el invierno ( $P = 0,0009$ ), y el verano ( $P = 0,0004$ ), existiendo una tendencia durante la primavera ( $P = 0,09$ ). No hubo diferencias en el otoño del segundo año en el tipo de marcación utilizada. Durante el otoño del primer año y el invierno los machos adultos utilizaron “orinar” y “ocular” con mayor frecuencia que los machos juveniles (Figura 22 a y b respectivamente), mientras que los machos juveniles utilizaron la marcación “base” más que los machos adultos. En el verano las diferencias a favor de los machos adultos se mantuvieron en la unidad “ocular”, siendo en esta estación “refregar” la unidad de marcación más utilizada por los machos juveniles en relación a las utilizadas por los machos adultos (ver Figura 22d).

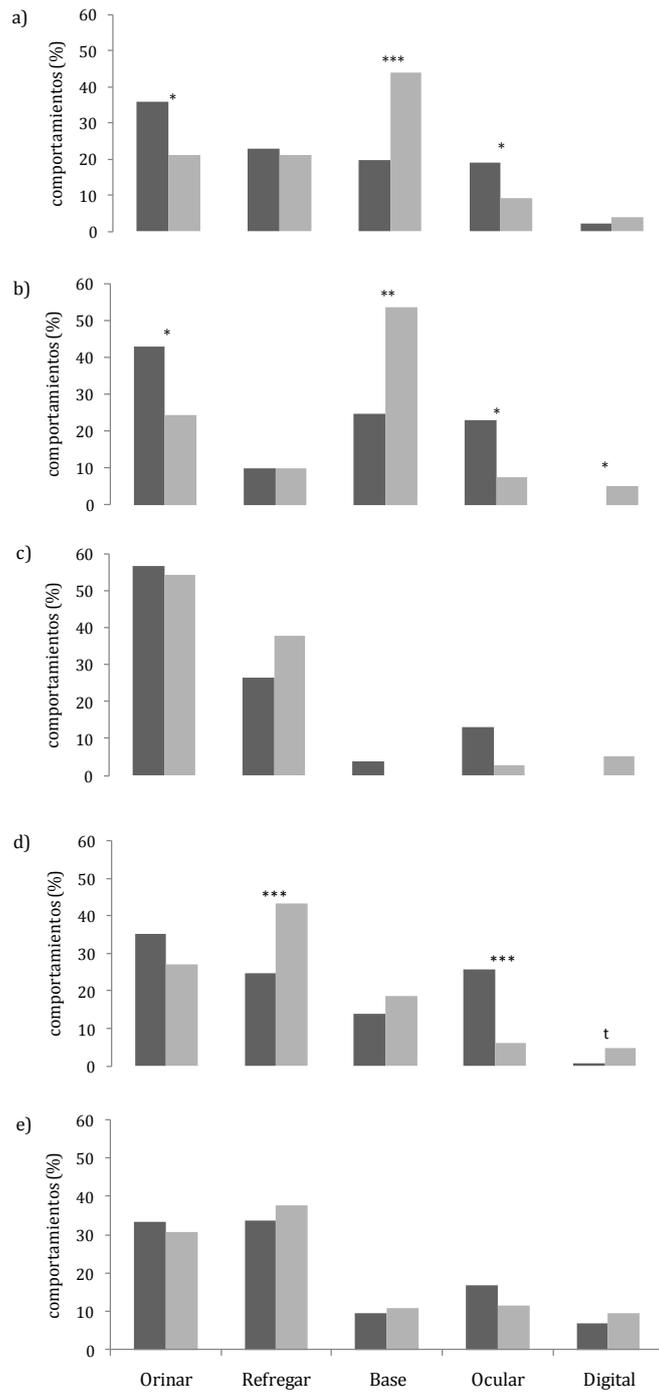


Figura 22. Comportamientos de marcación en adultos (barras oscuras) y juveniles (barras claras) en otoño (a), invierno (b), primavera (c), verano (d) y el siguiente otoño (e) en macho de venado de campo. \*\*\*P<0,001; \*\*P<0,01; \*P<0,05; t= tendencia

“...uno espera reglas simples en la estacionalidad reproductiva,  
pero siempre tendrán muchas excepciones fascinantes...”

Bronson

## 6. Discusión

Éste es el primer trabajo en que se describen los cambios reproductivos estacionales en machos de venado de campo adultos y juveniles, incluyendo estudios morfológicos, seminales, endócrinos y comportamentales. En las condiciones en las que se realizó este trabajo (alimentación constante y a latitud 33°47'S 54°00'O) el venado de campo, presenta un patrón reproductivo estacional. La estación de mayor desarrollo reproductivo es el otoño, cuando las horas luz disminuyen, y la de menor desarrollo es la primavera. En la Figura 23 se esquematiza un modelo de estacionalidad a partir de los resultados obtenidos. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en otros ciervos como axis (Loundon & Curlewis, 1988; Umapathy et al., 2007), wapití (Haigh et al., 1984), rojo (Lincoln, 1971; Gaspar-Lopez et al., 2010), gamo (Schnare & Fisher, 1987; Asher et al., 1987; 1989; Gocsh & Fisher, 1989), corzo (Goeritz et al., 2003), del padre David (Loudon et al., 1989), de Eld (Monfort et al., 1993ab), y reno (Leader-Williams, 1979).

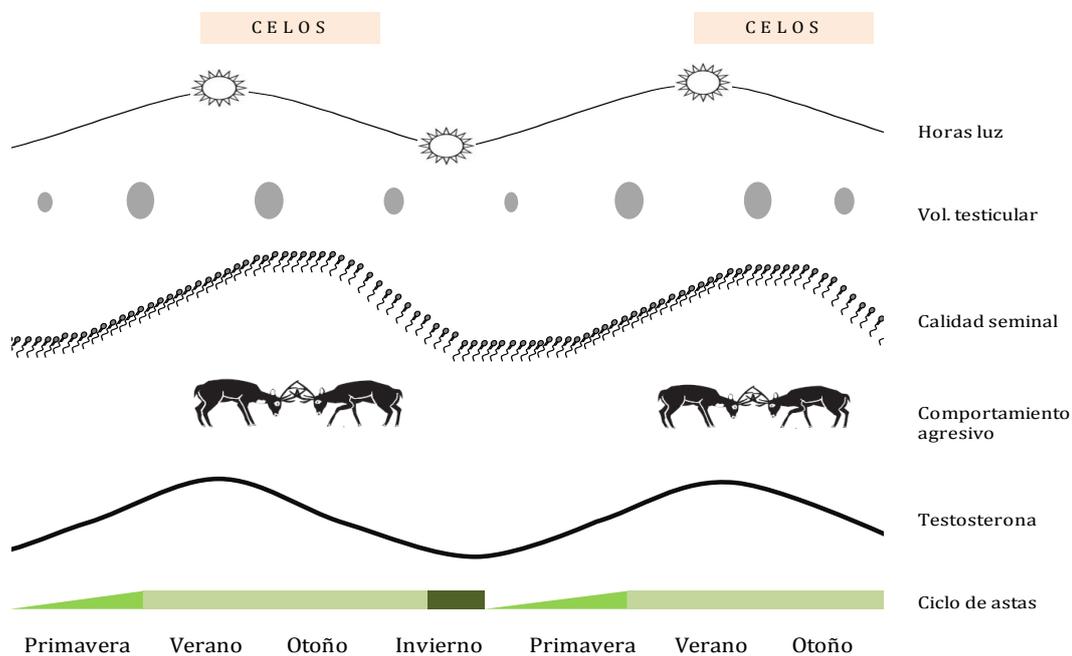


Figura 23. Esquema de las variaciones estacionales de las horas luz en relación a la estación reproductiva de los machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en semicautiverio (33°47'S 54°00'O).

Si bien existe un claro patrón estacional, los cambios reproductivos en los machos son moderados, posibilitando la reproducción en cualquier momento del año. Esto coincide con la distribución de partos registrados en la ECFA, ya que se han observado partos en todos los meses del año (Ungerfeld et al., 2008c). En vida libre también existen poblaciones en las que se observaron crías durante todo el año (Argentina: Jackson & Langguth, 1987; Merino y Moschione, 1995 citado por Merino et al., 1997, Uruguay: Jackson et al., 1980; Lombardi, 1993; González, 1997), pero en otras poblaciones las pariciones ocurrieron en un periodo más acotado (Brasil: Redford, 1987; Tomás, 1998b). Por tanto, podría plantearse que existe una importante plasticidad en el patrón reproductivo estacional de la especie, ya que en condiciones en las que no existen limitaciones de alimento, la especie tendría el potencial de extender su estación reproductiva.

Al igual que el patrón reproductivo, el ciclo de astas presenta una estacionalidad diferente entre poblaciones. La caída de las astas se produjo durante el otoño (marzo a mayo) en machos que habitan a 18°S (Brasil), pero en poblaciones más australes (Argentina, 31 – 36°S) se produjo durante el invierno–principio de primavera (julio a setiembre). Dado que en los cérvidos la caída de las astas está determinada por la disminución en la concentración de testosterona (Bubenik, 1991), es de esperar que las poblaciones de Brasil presenten menores concentraciones de esta hormona durante el otoño, momento en el que pierden las astas. Esto fue confirmado por García-Pereira et al. (2005), quienes observaron las concentraciones de testosterona fecal más bajas del año a mediados de otoño–mediados de invierno, siendo el pico hormonal durante el verano. Por el contrario, en el presente trabajo la caída de astas se observó durante el invierno, periodo en el que las concentraciones de testosterona fueron menores, lo que coincide con lo reportado para las poblaciones silvestres de Argentina y Uruguay. Estas diferencias podrían deberse a que en las poblaciones brasileras las claves ambientales que determinan el comienzo de la estación reproductiva no sean solamente los cambios fotoperiódicos, teniendo una influencia mayor la época de lluvias o la variación alimenticia (Tomás, 1988b).

En relación a los cambios bioquímicos, la FAS aumentó en la primavera, coincidiendo con el período en el que ocurre el crecimiento de las astas. Estos resultados concuerdan con lo

reportado para otros cérvidos (ciervo axis: Chapple et al., 1991; ciervo de cola blanca: Morris & Bubenik, 1983; Bubenik et al., 1987; Van Der Eemas et al., 1988; gamo: Schnare & Fisher, 1987). Dado que la FAS es una enzima íntimamente relacionada al movimiento de minerales a nivel óseo (Rosol & Capen, 1997), el aumento observado en la primavera probablemente se deba al rápido crecimiento de las astas. En otras especies existen diferencias entre categorías en las concentraciones séricas de esta enzima de acuerdo al tamaño de las astas (Bubenik et al., 1987). Estos autores describen que los animales más viejos presentan mayores concentraciones de FAS y sus astas son de mayor tamaño. Si bien en venado de campo existen diferencias en el tamaño de las astas en relación a la edad (Ungerfeld et al., 2011), en el presente trabajo no se encontraron diferencias entre categorías en la concentración de FAS. Una posible explicación es que las diferencias de tamaño de astas entre categorías en el venado de campo no sean suficientes para generar las diferencias en las concentraciones séricas de la enzima.

Las concentraciones de fósforo presentaron los máximos valores en el verano sólo en los animales adultos, no coincidiendo con el aumento de FAS, lo que hubiera sido esperable ya que esta enzima está íntimamente relacionada al movimiento de minerales como el fósforo. Por lo tanto sería de esperar que el fósforo presentara una variación similar a la observada en la FAS, y que sus aumentos se relacionen al crecimiento de las astas. No existe una explicación sobre la diferencia de patrones entre las concentraciones de fósforo y las de FAS.

Las concentraciones de colesterol en los machos de venado de campo aumentaron durante la primavera, coincidiendo con el periodo de crecimiento de las astas. Las concentraciones de colesterol en sangre se relaciona con el crecimiento de los tejidos (Bruss, 1997). En ciervos silvestres las fluctuaciones del colesterol se atribuyen a las variaciones de peso asociadas a la oferta de alimento y al crecimiento de las astas (Morris & Bubenik, 1983). Dado que en este trabajo el alimento fue suministrado en forma homogénea a lo largo del año, es posible especular que el rápido crecimiento de las astas esté ligado al aumento del colesterol sanguíneo observado en primavera. Tampoco es posible descartar que la recuperación de peso que ocurre en primavera y que se discute a continuación, esté vinculada a las variaciones en las concentraciones de colesterol sanguíneo.

El peso varió en forma estacional en los machos adultos, mientras que en los juveniles aumentó del otoño de 2008 al otoño de 2009. Por lo tanto, en los machos juveniles no es posible separar el efecto de la estación y el del crecimiento. Machos pertenecientes a la misma población y con similar manejo alimenticio, presentaron un crecimiento lento, continuando con el mismo al menos hasta los 3 años (Ungerfeld et al., 2011). Las variaciones estacionales del peso corporal observadas en los adultos podrían relacionarse a las altas demandas energéticas de la termorregulación (Fourier et al., 1999) o al crecimiento de las astas (French et al., 1956). Otro factor que podría estar influyendo es la variación estacional del apetito, el que afecta directamente el peso. La regulación del apetito es un fenómeno complejo, en el que participan muchos factores difíciles de separar, entre ellos el fotoperíodo (Putman, 1988). Esta variación estacional del peso se ha observado en varias especies de ciervos, dado que los animales disminuyen el consumo de alimento y el peso durante el invierno (Putman, 1988). Este fenómeno podría deberse al cambio de día corto a largo, como fue observado en rumiantes estabulados en los que ese cambio lumínico generó un aumento en el consumo de alimento (Kay, 1985 citado por Lincoln et al., 2001). Esto podría estar mediado por otras hormonas, como la PRL o las hormonas tiroideas, las que tienen una marcada estacionalidad e influencia en el metabolismo de los animales (Malpoux, 2006). A su vez, en la naturaleza los machos presentan grandes pérdidas de peso durante la época reproductiva debido al costo energético de los enfrentamientos por el acceso a las hembras, y a la disminución del tiempo dedicado a la alimentación (Clutton-Brock et al., 1982). Las variaciones de peso registradas en este trabajo son en gran parte consecuencia del fotoperíodo, ya que los animales se encontraban suplementados con alimento y alojados en grupos de machos sin contacto directo con hembras, pudiendo minimizar de esta manera la influencia alimenticia y social. En los machos juveniles no se observaron las disminuciones invernales a pesar de que ambas categorías estuvieron sometidas a las mismas condiciones. Antecedentes en esta especie demuestran que la relación entre las astas y el tamaño corporal es mayor en los machos adultos que en los juveniles (Ungerfeld et al., 2011). Por ello se podría especular con que los machos juveniles minimizan los gastos requeridos para el crecimiento de astas, priorizando destinar recursos energéticos a su crecimiento.

En este trabajo se observó una marcada disminución en el perímetro del cuello en invierno y primavera en ambas categorías. En los machos juveniles, al mismo tiempo que el

peso aumentaba, el perímetro del cuello disminuía, demostrando indirectamente que el tamaño del cuello no depende solamente del crecimiento corporal. El perímetro del cuello es una característica sexual secundaria de los machos, cuyo crecimiento está vinculado al aumento del volumen muscular generado por la acción anabólica de la testosterona (Handelsman 2006). Otros autores explican este aumento en base al ejercicio muscular realizado durante las peleas con otros machos (Clutton-Brock et al., 1982). Al observar conjuntamente los resultados de concentración de testosterona y perímetro de cuello entre las categorías, se ve que ambas variables aumentan y disminuyen en los mismos momentos del año, siguiendo un patrón similar entre ambas. Por otra parte, las concentraciones de testosterona y el perímetro del cuello de los machos juveniles no alcanzaron los valores de los machos adultos un año después de comenzado el trabajo. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en otras especies, en las que las diferencias hormonales entre edades se atribuyen a una maduración endócrina lenta que estaría limitando la secreción de testosterona de los animales jóvenes (Gómez et al., 2006). Estas diferencias a lo largo de la vida del animal podrían estar influyendo directa o indirectamente en el desarrollo de las características sexuales secundarias de los machos. Por lo tanto, los machos juveniles de esta especie podrían estar demorando más en alcanzar el perímetro del cuello de los adultos, siendo una de las posibles causas las menores concentraciones de testosterona.

El largo del miembro anterior fue mayor durante el invierno, siendo similar el resto del año en ambas categorías. Una posible explicación de los resultados obtenidos podría ser la forma en que fue medida dicha variable. La misma se midió en decúbito derecho con el miembro anterior izquierdo extendido, desde la pezuña hasta la columna. Una posible explicación del aumento observado en invierno podría ser debido a la acumulación de grasa subcutánea y al crecimiento de pelo invernal en la zona del tórax.

Los parámetros seminales fueron afectados por la estación, coincidiendo con lo que ocurre con los cambios endócrinos y morfológicos. Esto concuerda con lo encontrado en carneros, en los que se reportó una fuerte asociación en los cambios estacionales endócrinos (concentraciones de testosterona, prolactina y melatonina) y el aumento del tamaño testicular, de los túbulos seminíferos y células germinales (Hochereau de Reviere & Lincoln, 1978; Lincoln & Short, 1980). La relación entre las variaciones de testosterona, y la producción y calidad espermática ya fueron reportadas en otros cérvidos (wapiti: Haigh et al.,

1984; corzo: Blottner et al., 1996). Estos autores, al igual que ocurre en el presente trabajo, reportaron que la calidad seminal sigue el patrón estacional de las concentraciones de testosterona, siendo baja durante la primavera y alta en el otoño. Una posible explicación a los cambios seminales observados es la relación directa entre las altas concentraciones de testosterona y el aumento en el número de células germinales en los túbulos seminíferos, espermatozoides en el epidídimo, y la calidad seminal (Loudon & Curlewis, 1988; Monfort et al., 1993). Además, el semen está formado en gran parte por la secreción de las glándulas sexuales anexas (bulbouretral, glándula vesicular y próstata), las que presentan variaciones estacionales de tamaño y vascularización (muflones y carneros: Santiago-Moreno et al., 2005; gamo: Chapman & Chapman, 1979; ciervo de cola negra: West & Nordan, 1976; corzo: Goeritz et al., 2003; Schön & Blottner, 2009). Si bien en este trabajo el estado de las glándulas anexas no fue evaluado, es de esperar que existan variaciones, siendo otro factor que influya sobre la calidad seminal a lo largo del año.

Al analizar en forma conjunta los resultados de estacionalidad reproductiva descritos en este trabajo, con los antecedentes de celos y partos registrados en la misma población (Ungerfeld et al., 2008b, 2008c), se puede observar que los machos llegan a su máximo potencial reproductivo durante la época de celos. Sin embargo, como se puede observar en el tamaño testicular y la calidad seminal, los cambios reproductivos comienzan a evidenciarse algunos meses antes (verano). En otros rumiantes, el inicio de la estación reproductiva de los machos se adelanta a la estación de celos (Lincoln & Short, 1980), ya que los mismos deben competir por el acceso a las hembras y llegar en óptimas condiciones físicas y reproductivas antes de que éstas comiencen a ciclar. Este adelantamiento se observa en el venado de campo en semicautiverio, incluso cuando son suplementados con alimento, tal como ocurre en el presente estudio.

En el presente trabajo se observó comportamiento agonista durante todo el año, siendo menos frecuente durante la primavera, coincidiendo con las bajas concentraciones de testosterona y el menor tamaño testicular. En los machos el comportamiento agresivo es modificado por las concentraciones de testosterona circulantes (Lincoln, 2001). En el ciervo de Eld los machos al escuchar vocalizar a otro macho adoptan una postura de ataque (bajar la cabeza). Dicho comportamiento se presenta con más frecuencia cuando las concentraciones de testosterona y el tamaño testicular están disminuyendo (Monfort et al., 1993b). En machos

de ciervo rojo castrados y posteriormente implantados con parches con diferentes cantidades de testosterona, se observó que la cantidad de enfrentamientos con otros machos aumentó dos a tres semanas luego de colocados los implantes, y que dicho aumento fue mayor cuanto mayores eran las cantidades de la hormona en el parche (Lincoln et al., 1972). Esto podría estar indicando que la testosterona no sólo juega un papel en la manifestación y mantenimiento del comportamiento agonista, sino que también tendría un papel cuantitativo. Por lo tanto, las diferentes concentraciones de testosterona observadas entre machos adultos y machos juveniles podrían estar generando las diferencias en la frecuencia de comportamientos agonistas observados.

Al analizar el uso diferencial de las unidades agonistas entre categorías, se observa que durante la estación reproductiva los machos adultos utilizan mayoritariamente unidades comportamentales que no implican contacto físico, tales como la “presencia”. Por el contrario, los juveniles utilizan unidades más agresivas, tales como “trabar” astas. Recientemente Freitas de Melo et al. (2010) obtuvieron resultados similares en machos de venado de campo, en condiciones y edades similares. Las diferencias se mantuvieron un año después de comenzado el muestreo, lo que podría estar indicando que la maduración comportamental en los machos de venado de campo es lenta, y no llega a culminar a los 2,5 años de edad. Una de las posibles explicaciones de que los machos juveniles utilicen comportamientos más agresivos podría ser que la jerarquía del grupo no se encuentre estabilizada. Dado que los machos juveniles continuaron creciendo, podrían verse motivados a enfrentarse entre ellos, y de esta manera evaluar la fuerza de los oponentes trabando las astas. Como los machos adultos ya culminaron su crecimiento, y sólo presentan cambios morfológicos estacionales, los enfrentamientos podrían resolverse con menor contacto físico, con sólo mirarse. Además, los individuos de esta categoría podrían estar utilizando las experiencias previas para resolver los conflictos, mientras que los juveniles se encuentran en pleno aprendizaje.

El comportamiento de marcación no presentó un patrón estacional claro en ninguna de las dos categorías, pudiendo ser observado durante todo el año. Los machos adultos de corzo marcan solamente al momento de establecer su territorio (marzo-agosto), algunos meses antes que comience la estación de celos (julio-agosto), mientras que en la misma especie los machos subadultos lo hacen durante la estación reproductiva (Johansson & Liberg, 1996). Los autores argumentaron que las diferencias entre categorías podrían deberse a que los adultos

tienen la posibilidad de acceder a hembras, y por lo tanto tienen un territorio que defender, lo que no ocurre en los machos subadultos. Cuando los animales marcan, depositan secreciones en el ambiente, transmitiendo señales e información al mismo, las que llegan a sus coespecíficos, tanto hembras como machos, así como a otros animales (Gosling, 1985). Cuando los individuos receptores de la señal química dejada por la marcación son otros machos, los mismos pueden llegar a identificar al individuo emisor, y llegar a conocer su posición jerárquica. Existen comportamientos de marcación, tales como marcar con la “base”, “digital” y “orinar”, que son fuertes señales visuales mientras se realizan, y que perduran en el ambiente (Gosling, 1985). Es interesante que los machos juveniles utilizaron marcar con “base” con alta frecuencia durante el primer otoño y el invierno, no manteniéndose así en el siguiente otoño. Posiblemente, al igual que lo mencionado con respecto al comportamiento agonista, los machos juveniles estén utilizando la marcación como una señal visual para establecer su posición jerárquica en el grupo. Por el contrario, los machos adultos utilizan unidades de marcación más relacionadas al depósito de las secreciones glandulares, tales como la marcación “ocular”. Este comportamiento está estrechamente vinculado a la comunicación con hembras y a la delimitación del territorio (Gosling, 1985; Johansson & Liberg, 1996). Resulta llamativo que luego de un año de comenzado el trabajo, ya no existan diferencias entre categorías en el tipo de unidades de marcación utilizadas. Esto podría indicar que el comportamiento de marcación se estabiliza antes que el comportamiento agonista, cuando los animales tienen aproximadamente tres años.

## 7. Conclusiones

- Los machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) presentaron un patrón reproductivo estacional, siendo el otoño y la primavera las estaciones de mayor y menor desarrollo reproductivo respectivamente. Dicho patrón es moderado ya que existe producción de gametos aptos para la reproducción durante todo el año.
- Todas las medidas corporales variaron estacionalmente, siendo la estación de mayor desarrollo el otoño y la de menor desarrollo la primavera. A los tres años de edad los machos continuaron aumentando el peso corporal y el perímetro de cuello.
- Las características seminales variaron estacionalmente, presentando la mayor calidad durante el verano y el otoño, y la menor en la primavera.
- La fecha de caída de astas no difirió entre los machos adultos y juveniles.
- Las concentraciones séricas de testosterona variaron estacionalmente, presentado menores concentraciones durante el invierno y la primavera, y las mayores en el otoño. Durante la estación reproductiva (otoño) los machos juveniles tuvieron menores concentraciones séricas de testosterona que los machos adultos.
- La frecuencia de comportamientos agonistas variaron estacionalmente. Los machos adultos y juveniles utilizaron los comportamientos agonistas en forma diferente a lo largo del año. Los machos juveniles utilizaron más frecuentemente unidades agonistas con más contacto físico que los adultos.
- La frecuencia de marcación no presentó un claro patrón estacional. Los machos adultos y juveniles utilizaron en forma diferente las unidades de marcación a lo largo del año. El comportamiento de marcación se estabilizó a edad más temprana que el comportamiento agonista.

## 8. Referencias

Anderson DL, del Aguila JA, Bernadon AB, 1970. Las formaciones vegetales en la Provincia de San Luis. Rev Inv Agr (Argentina) 7:153-183.

Anderson GM, Hardy SL, Valent M, Billings HJ, Connors JM, Goodman RL, 2003a. Evidence that thyroid hormones act in the ventromedial preoptic area and the premammillary region of the brain to allow the termination of the breeding season in the ewe. Endocrinology 144:2892-2901.

Anderson GM, Lapwood KR, Knight PG, Parkinson TJ, 2003b. The reproductive response of rams to thyroidectomy: mediation by impaired inhibin feedback rather than a change in LH pulsatility. Reproduction 126:353-364.

Apollonio M, 1989. Lekking in fallow deer: just a matter of density? Ethol Ecol Evol 1:291-294.

Apollonio M, Di Vittorio I, 2004. Feeding and reproductive behaviour in fallow bucks (*Dama dama*). Naturwissenschaften 91:579-584.

Asher GW, 2011. Reproductive cycle of deer. Anim Reprod Sci, en prensa.

Asher GW, Berg DK, Evans G, 2000. Storage of semen and artificial insemination in deer. Anim Reprod Sci 62:195-211.

Asher GW, Day AM, Barrell GK, 1987. Annual cycle of liveweight and reproductive changes of farmed male fallow deer (*Dama dama*) and the effect of daily oral administration of melatonin in summer on the attainment of seasonal fertility. J Reprod Fert 79:353-362.

Asher GW, Peterson AJ, Bas JJ, 1989. Seasonal pattern of LH and testosterone secretion in adult male fallow deer, *Dama dama*. J Reprod Fert 85:657-667.

Aung M, McShea WJ, Htung S, Than A, Soe TM, Monfort S, Wemmer C, 2001. Ecology and social organization of a tropical deer (*Cervus eldi thamin*). J Mamm 82:836-847

Ax RL, Dally M, Didion, BA, Lenz RW, Love CC, Varner DD, Hafez B, Bellin ME, 2002. Evaluación del semen. En: Hafez ESE, Hafez B (Eds). Reproducción e inseminación artificial en animals. 7ª ed. Ed Mc Graw Hill. DF. México. pp 519.

- Barbanti-Duarte JM, Garcia-Pereira JM, 1997. Tecnologia da reprodução para propagação e conservação de espécies ameaçadas de extinção. En: Duarte JMB (Ed). *Biologia e Conservação de Cervídeos Sul – americanos*. Jaboticabal, Ed FUNEP, Brasil. pp 228-238.
- Barroso LA, Tonillo GH, Duarte JMB, Pinho MP, Oliveira JA, 2001. Padrão anual variação da testosterona sérica, volume testicular e aspectos seminais de veado-catingueiros (*mazama guazoubira*, fisher, 1814) em cativeiro. *Rev Bras Reprod Anim* 25:210-211.
- Blottner S, Hingst O, Meyer HHD, 1996. Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*). *J Reprod Fert* 108:299-305.
- Brinklow BR, Loudon AS, 1993. Gestation periods in the Pere David's deer (*Elaphurus davidianus*): evidence for embryonic diapause or delayed development. *Reprod Fertil Dev* 5:567-575.
- Bronson FH, 1989. *Mammalian Reproductive Biology*. The University of Chicago Press. Chicago. EEUU. pp 325.
- Bruss ML, 1997. Lipids and Ketones. *Clinical Enzymology*. En: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Eds). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5ª ed. Ed Academic Press Inc. San Diego. EEUU. pp 83-111.
- Bubenik GA, 1991. Regulatory mechanisms of the antler cycle and the selection of deer breeding stock by endocrine tests. En: Renecker LA, Hudson RJ (Eds). *Wildlife Production-Conservation and Sustainable Development*, AFES Misc. Publ. 91-6. Univ. of Alaska. Fairbanks. AK. EEUU. pp 521-529.
- Bubenik GA, 2006. Seasonal regulation of deer reproduction as related to the antler cycle – a review. *Vet Arhiv* 76 (Suppl.):275-285.
- Bubenik GA, Bubenik AB, 1985. Seasonal variations in hair pigmentation of white-tailed deer and their relationship to sexual activity and plasma testosterone. *J Exp Zool* 235:387-395.
- Bubenik GA, Schams D, Coenen G, 1987. The effect of artificial photoperiodicity and antiandrogen treatment on the antler growth and plasma levels of LH, FSH, testosterone, prolactin and alkaline phosphatase in the male white-tailed deer. *Comp Biochem Physiol* 87:551-559.
- Cabrera A, 1943. Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica. *Rev Museo La Plata (Argentina)* 3:5-41.
- Carvalho CT, 1973. O veado campeiro (Mammalia, Cervidae). *Boletim Técnico* 7. Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Coordenadoria da Pesquisa de Recursos Naturais, Instituto Florestal, Brasil. pp 9-22.

Chapman DL, Chapman NG, Dansie O, 1984. The periods of conceptions and parturition in feral reeve's muntjac (*Muntiacus reevesi*) in southern England based upon age of juvenile animals. *J Zool* 204:575-578.

Chapman NG, Chapman DL, 1979. Seasonal changes in the male accessory glands of reproduction in adult fallow deer (*Dama dama*). *J Zool Lond* 189:259-273.

Chapple RS, English AW, Muliey RC, Lopherd EE, 1991. Hematology and serum biochemistry of captive unsedated chital deer (*Axis axis*) in Australia. *J Wildlife Dis* 27:396-406.

CITES, 2011. Appendices I, II and III. Disponible en: <http://www.cites.org/eng/app/appendices.shtml>. Fecha de consulta: 22/2/11.

Clutton-Brock T, Guinness FE, Albon SD, 1982. Red deer: behavior and ecology of two sexes. University of Chicago. Chicago. EEUU. pp 378.

Cosse M, 2001. Dieta y solapamiento de la población de venado de campo "Los Ajos", (*Ozotoceros bezoarticus* L 1958) (Artiodactyla: Cervidae). Tesis de Maestría. PEDECIBA, Montevideo, Uruguay.

Curlewis JD, 1992 Seasonal prolactin secretion and its role in seasonal reproduction: a review. *Reprod Fertil Dev* 4:1-23.

Darwin C, 1832-33. Beagle animal notes. Disponible en: [http://darwin-online.org.uk/manuscripts\\_announcement.html](http://darwin-online.org.uk/manuscripts_announcement.html). Fecha de consulta: 17/2/11.

Del Giudice, Mech LD, Kunkel EK, Gese EM, Seal SU, 1992. Seasonal patterns of weight, hematology, and serum characteristic of free-ranging female white-tailed deer in Minnesota. *Can J Zool* 70:974-983.

Delbene L, González-Pensado SX, Villagrán M, Ungerfeld U, 2009. Etograma de comportamiento agonista en venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en semicautiverio. II Jornadas Uruguayas de Comportamiento Animal. Montevideo, Uruguay. pp 63.

Delbene L, Villagrán M, González-Pensado SX, Ungerfeld U, 2008. Comportamiento de marcación en un grupo de machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) en semicautiverio: I. Etograma. IX Jornadas de Zoología del Uruguay. Montevideo, Uruguay.

Dellafiore CM, Demaría M, Maceira N, Bucher E, 2003. Distribution and abundance of the pampas deer in San Luis province, Argentina. *J Neotrop Mammal* 10:41-47.

Demaría MR, McShea WJ, Koy K, Maceira NO, 2003. Pampas deer conservation with respect to habitat loss and protected area considerations in San Luis, Argentina. *Biol Conserv* 115:121-130.

Dirección Nacional de Meteorología, 2011. Características estacionales del clima. Disponible en: <http://www.meteorologia.gub.uy/index.php/caracteristicas-estacionales-del-clima>. Fecha de consulta: 15/2/11.

English AW, Lepherd EE, 1981. The hematology and serum biochemistry of wild fallow deer (*Dama dama*) in new south wales. J Wildlife Dis 17:289-295.

Evans G, Maxwell WMC, 1990. Steven Salamon Inseminación artificial de ovejas y cabras. Acribia, Zaragoza. España. pp 191.

Flanch E, 2003. Cervidae and Tragukidae. En: Fowler M (Ed). Zoo and wild animal medicine. 5ª ed. Elsevier. St Louis (Missouri). EEUU. pp 634-648.

Fourier F, Thomas DW, Garland T, 1999. A test of two hypotheses explaining the seasonality of reproduction in temperate mammals. Funct Ecol 13:523-529.

Frädrich H, 1981. Beobachtungen am pampashirsch, *Blastoceros bezoarticus* (L., 1758). Zool Gart 51:7-32.

Freitas de Melo A, Silveira FF, Ungerfeld R, 2010. Estratégias agonísticas em machos adultos y juveniles de venado de campo *Ozotoceros bezoarticus* em semicautiverio. X Jornadas de Zoología del Uruguay. Montevideo, Uruguay.

French CE, McEwen LC, Magruder ND, Ingram RH, Swift RW, 1956. Nutrient requirements for growth and antler development in the white-tailed deer. J Wildl Manage 20:221-232.

Gaillard JM, Delorme D, Jullien JM, Tatin D, 1993. Timing and synchrony of births in roe deer. J Mammal 74:738-744.

Garcia-Pereira RJ, Barbanti-Duarte JM, Negrão JA, 2005. Seasonal changes in fecal testosterone concentrations and their relationship to the reproductive behavior, antler cycle and grouping patterns in free-ranging male pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). Theriogenology 63:2113-2125.

Gaspar-Lopez E, Landete-Castillejos T, Estevez JA, Ceacero F, Gallego L, García AJ, 2010. Biometrics, testosterone, cortisol and antler growth cycle in iberian red deer stags (*Cervus elaphus hispanicus*). Reprod Dom Anim 45:243-249.

Gocsh B, Fisher K, 1989. Seasonal changes of testis volume and sperm quality in adult fallow deer (*Dama dama*) and their relationship to antler cycle. J Reprod Fert 85:7-17.

Goeritz F, Quest M, Wagener A, Fassbendert M, Broich A, Hildebrandt TB, Hofman RR, Blottner S, 2003. Seasonal timing of sperm production in roe deer: interrelationship among changes in ejaculate parameters, morphology and function of testis accessory glands. Theriogenology 59:1487-1502.

Goldman BD, 2001. Mammalian photoperiodic system: Formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *J Biol Rhythms* 16:283-301.

Gómez JA, García AJ, Landete-Castillejos T, Gallego L, 2006. Effect of advancing births on testosterone until 2.5 years of age and puberty in red deer stags (*Cervus elaphus hispanicus*). *Reprod Dom Anim* 96:79-88.

González S, 1993. Situación poblacional del venado de campo en el Uruguay. En: Population and habitat viability assessment for the pampas deer *Ozotoceros bezoarticus*. Reunión informativa. IUCN. Rocha, Uruguay.

González S, 1997. Análisis de la variabilidad morfológica y genética del venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) y sus consecuencias para la conservación. Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas, PEDECIBA, Uruguay.

González S, Álvarez-Valin F, Maldonado JE, 2002. Morphometric differentiation of endangered pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*), with description of new subspecies from Uruguay. *J Mamm* 83:1127-40.

González-Sierra UT, 1985. Erfahrungen mit der zucht von pampashirschen (*Ozotoceros bezoarticus*). *Bongo* (Berlin) 9:33-44.

Gosling LM, 1985. From The even-toed ungulates: order Artiodactyla: Sources, behavioural context, and functional of chemical signals. En: Brown RE, Macdonald DW (Eds). *Social Odors in mammals Volume 2*. 1<sup>er</sup> ed. Larendon Press, Oxford Univeristy Press. Londres. UK. pp 550-618.

Góss-Braga F, 1999. Redescoberta do veado-campeiro, *Ozotoceros bezoarticus*, no estado do Paraná-Brasil. En: II Taller de Cérvidos del Uruguay. Montevideo, Uruguay.

Gregerson KA, 2006. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. En: Neill ED (Ed). *Knobil and Neill's Physiology of reproduction*, 3a ed. Academic Press. St Louis, Mo. EEUU. pp 1703-1726.

Grubb P, 1974. The rut and behaviour of Soay rams. En: Jewell PA, Milner C, Morton Boyd J (Eds). *Island survivors: the ecology of the Soay sheep of St Kilda*. Athlone Press, University of London. Londres. UK. pp 386.

Haigh JC, Cates WF, Glover GJ, Rawlingst NC, 1984. Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapití (*Cervus elaphus*). *J Reprod Fert* 70:413-418.

Handelsman DJ, 2006. Aging in the hypothalamic-pituitary-testicular axis. En: Neill ED (Ed). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3<sup>a</sup> ed. Academic Press. St Louis, Mo. EEUU. pp 2697-2728.

- Hochereau de Reviers MT, Lincoln GA, 1978. Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*. J Reprod Fertil 54:209-213.
- Hötzel MJ, 1995. Nutritional and photoperiodic control of gonadotrophin secretion and testicular function in the ram. Tesis de Doctorado. Animal Science Group. Faculty of Agriculture. The University of Western Australia. Perth, Australia.
- Høymork A, Reimers E, 2002. Antler development in reindeer in relation to age and sex. Rangifer 22:75-82.
- Jackson J, Giullieti J, 1988. The food of pampas deer *Ozotoceros bezoarticus celer* in relation to its conservation in relict natural grassland in Argentina. Biol Cons 45:1-10.
- Jackson JE, 1986. Antler cycle in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) from San Luis, Argentina. J Mammal 67:175-176.
- Jackson JE, 1987. *Ozotoceros bezoarticus*. Mamm Species 295:1-5.
- Jackson JE, Landa P, Langguth A, 1980. Pampas deer in Uruguay. Oryx 15:267-272.
- Jackson JE, Langguth A, 1987. Ecology and status of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Argentinean pampas and Uruguay. En: Wemmer C (Ed). Biology and management of the Cervidae. Smithsonian Institution Press, Washington. EEUU. pp 402-409.
- Johansson A, Liberg O, 1996. Functional aspects of marking behavior by male roe deer (*Capreolus capreolus*). J Mamm 77: 558-567.
- Junguis H, 1975-76. Status and distribution of threatened deer species in South America. Report to SSC/IUCN deer group. World Wildlife Fund Yearbook. Gland. Switzerland 76:203-217.
- Kerr JB, Loveland KL, O' Bryan MK, de Kretser DM, 2006. Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. En: Neill ED (Ed). Knobil and Neill's Physiology of reproduction, 3ª ed. Academic Press. St Louis, Mo. EEUU. pp 827-920.
- Kramer JW, Hoffman WE, 1997. Clinical enzymology. En: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (Eds). Clinical biochemistry of domestic animals. 5ª ed. Academic Press Inc. San Diego. USA. pp 309-325.
- Lamberck K, 1980. The earth's variable rotation: geophysical causes and consequences. Ed Cambridge University Press. Cambridge. UK. pp 351.
- Langguth A, Jackson J, 1980. Cutaneous scent glands in pampas deer *Blastoceros bezoarticus* (Linneus 1758). Zeitschr Säuget 45:82-90.

- Leader-Williams N, 1979. Age-related changes in the testicular and antler cycles of reindeer, *Rangifer tarandus*. J Reprod Fert 57:117-126.
- Lincoln GA, 1971. The seasonal reproductive changes in the red deer stag (*Cervus elaphus*). J Zoo Lond 163:105-123.
- Lincoln GA, 1998. Reproductive seasonality and maturation throughout the complete life-cycle in the mouflon ram. Anim Reprod Sci 53:87-105
- Lincoln GA, 1990. Correlation with changes in horns and pelage, but not reproduction, of seasonal cycles in the secretion of prolactin in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. J Reprod Fert 90:285-296.
- Lincoln GA, 1992. Biology of seasonal breeding in deer. En: Brown RD (Ed). The biology of deer. Springer Verlag. New York. USA. pp 565-574.
- Lincoln GA, 2001. The irritable male syndrome. Reprod Fertil Dev 13:167-176.
- Lincoln GA, 2002a. Neuroendocrine regulation of seasonal gonadotrophin and prolactin rhythms: lessons from the Soay ram model. Reprod (Suppl.) 59:131-147.
- Lincoln GA, 2002b. Melatonin modulation of prolactin and gonadotrophin secretion. Adv Exp Med Biol 460:137-153.
- Lincoln GA, Almeida OFX, Arendt J, 1981. Role of melatonin and circadian rhythms in seasonal reproduction in rams. J Reprod Fert (Suppl.) 30:23-31.
- Lincoln GA, Andersson H, Loudon A, 2003. Clock genes in calendar cells as the basis of annual timekeeping in mammals – a unifying hypothesis. J Endocrinol 179:1-13.
- Lincoln GA, Clarke IJ, 1994. Photoperiodically-induced cycles in the secretion of prolactin in hypothalamopituitary disconnected rams: Evidence for translation of the melatonin signal in the pituitary gland. J Neuroendocrinol 6:251-260.
- Lincoln GA, Davidson W, 1977. The relationship between sexual and aggressive behavior, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of ram, and the influence of photoperiod. J Reprod Fert 49:267-276.
- Lincoln GA, Guinness F, Short RV, 1972. The way in which testosterone controls the social and sexual behavior of the red deer stag (*Cervus elaphus*). Horm Behav 3:375-396.
- Lincoln GA, Lincoln CE, McNeilly AS, 1990. Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breed of sheep. J Reprod Fert 88:623-633.
- Lincoln GA, Short RV, 1980. Seasonal breeding: Nature's contraceptive. Recent Prog Horm Res 36:1-52.

Lombardi R, 1993. Mortalidad precoz y ciclos vitales en una población relictual de *Ozotoceros bezoarticus* del Uruguay. Informe final, Programa MAB para jóvenes investigadores, Uruguay.

Loudon ASI, Curlewis JD, 1988. Cycle of antler and testicular growth in an aseasonal tropical deer (*Axis axis*). J Reprod Fert 83:729-738.

Loudon ASI, Milne JA, Curlewis JD, McNeilly AS, 1989. A comparison of the seasonal hormone changes and patterns of growth, voluntary food intake and reproduction in juvenile and adult red deer (*Cervus elaphus*) and Père David's deer (*Elaphurus davidianus*) hinds. J Endocrinol 122:733-745

Malpaux B, 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. En: Neill ED (Ed). Knobil and Neill's Physiology of reproduction. 3ª ed. Academic Press. St Louis, Mo. EEUU. pp 2231-2281.

Malpaux B, Daveau A, Maurice-Mandon F, Duarte G, Chemineau P, 1998. Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: Presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery. Endocrinology 139:1508-1516.

Malpaux B, Migaud M, Tricoire H, Chemineau P, 2001. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. J Biol Rhythm 16:336-347.

Malpaux B, Robinson JE, Brown MB, Karsch FJ, 1988 Importance of changing photoperiod and melatonin secretory pattern in determining the length of the breeding season in the Suffolk ewe. J Reprod Fert 83:461-470.

Malpaux B, Skinner DC, Maurice F, 1995. The ovine pars tuberalis does not appear to be targeted by melatonin to modulate luteinizing hormone secretion, but may be important for prolactin release. J Neuroendocrinol 7:199-206.

Malpaux B, Vigui C, Skinner DC, Thiéry JC, Chemineau P, 1997. Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. Brain Res Bull 44:431-438.

Mercer, 1998. Regulation of appetite and body weight in seasonal mammals. Comp Biochem Physiol 119: 295-303.

Merino LM, Gonzales S, Leeuwenberg F, Guimaraes-Rodriguez FH, Moraes-Tomas W, 1997. Venado Camperiro (*Ozotoceros bezoarticus*). En: Barbanti-Duarte JM (Ed). Biología e Conservação de Cervídeos Sul-Americanos: *Blastoceros*, *Ozotoceros* e *Mazama*. FUNESP. San Pablo. Brasil. pp 41-58.

Monfort SL, Asher GW, Wildt DE, Wood TC, Schieve MC, Williamson LR, Bush M, Rall WF, 1993a. Successful intrauterine insemination of Eld's Deer (*Cervus eldi thamin*) with frozen-thawed spermatozoa. J Reprod Fertil 99:459-465.

Monfort SL, Brown JL, Bush M, Wood TC, Wemmer C, Vargas A, Williamson LR, Montali RJ, Wildt DE, 1993b. Circannual inter-relationships among reproductive hormones, gross morphometry, behaviour, ejaculate characteristics and testicular histology in Eld's deer stags (*Cervus eldi thamin*). J Reprod Fert 98:471-480.

Monfort SL, Wemmer C, Kepler TH, Bush M, Brown JL, Wildt DE, 1991. Monitoring ovarian function and pregnancy in Eld's deer (*Cervus eldi thamin*) by evaluating urinary steroid metabolite excretion. J Reprod Fertil 88:271-281.

Morris JM, Bubenik GA, 1983. Seasonal levels of minerals, enzymes, nutrients and metabolic products in plasma of intact and castrated adult male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). Comp Biochem Physiol 74:21-28.

Muir W, Hubbell J, Bednarski R, Skarda R, 2008. Manual de anestesia veterinaria. 4ª ed. Elsevier. Madrid. España. pp 656.

Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, 2001. Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. 8ª ed. Ed Saunders. St Louis, Mo. EEUU. pp 868.

O' Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, McLachlan RI, 2006. Endocrine regulation of spermatogenesis. En: Neill ED (Ed). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3ª ed. Academic Press. St Louis, Mo. EEUU. pp 1017-1054.

Parera A, Moreno D, 2000. El venado de las pampas en Corrientes, diagnóstico de su estado de conservación y propuestas de manejo: situación crítica. Fundación Vida Silvestre (Argentina). pp 40.

Parkinson TJ, Follet BK, 1994. Effect of thyroidectomy upon seasonality in ram. J Reprod Fertil 101:51-58.

Pautasso AA, Peña MI, Mastropaolo JM, Moggia L, 2002. Distribución y conservación del venado de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) en el norte de Santa Fe, Argentina. J Neotr Mammal 9:64-69.

Post E, Bøving PS, Pedersen C, MacArthur MA, 2003. Synchrony between caribou calving and plant phenology in depredated and non-depredated populations. Can J Zool 81:1709-1714.

Putman, R. 1988. The natural history of deer. Comstock Publishing Associates, Ithaca. NY. EEUU. pp 191.

Redford KH, 1987. The pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in central Brazil. En: Wemmer C (Ed). Biology and management of the Cervidae. Smithsonian Inst Press. Washington. EEUU. pp 410-414.

Rosol TJ, Capen CC, 1997. Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. En: Kaneko JJ, Harvey JW Bruss ML (Eds). Clinical biochemistry of domestic animals. 5<sup>a</sup> ed. Academic Press Inc. San Diego. USA. pp 619-687.

Rossini C, González-Pensado S, Villagrán M, Ungerfeld R, 2011. Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) chemical signals: marking behavior and cutaneous glands secretion. En: Weiss LE, Atwood JM (Eds). The Biology of Odors: Sources, olfaction and response. Ed Nova Science Publishers. En prensa.

Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet A, González-Bulnes A, Toledano-Díaz A, Malpoux B, López-Sebastián A, 2005. Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variation in plasma prolactin and melatonin concentrations. Dom Anim Endocrinol 28:416-429.

Santiago-Moreno J, López-Sebastián A, del Campo A, González-Bulnes A, Picazo R, Gómez-Brunet A, 2004. Effect of constant-release melatonin implants and prolonged exposure to a long day photoperiod on prolactin secretion and hair growth in mouflon (*Ovis gmelini musimon*). Dom Anim Endocrinol 26:303-314.

Santiago-Moreno J, López-Sebastián A, González-Bulnes A, Gómez-Brunet A, Tortonese D, 2001. The timing of the onset of puberty, extension of the breeding season, and length of postpartum anestrus in the female mouflon (*Ovis gmelini musimon*). J Zoo Wild Med 32:230-235.

Schnare H, Fisher K, 1987. Secondary sex characteristics and connected physiological values in male fallow deer (*Dama dama* L.) and their relationship to changes of the annual photoperiod: doubling the frequency. J Exp Zool 244:463-471.

Schön J, Blottner S, 2009. Seasonal variations in the epididymis of the roe deer (*Capreolus capreolus*). Anim Reprod Sci 111:344-352.

Scott IC, Asher GW, Lach JE, Littejohn RP, 2006. The influence of red deer genotype on conception pattern: eastern vs western subspecies. Proc New Zealand Soc Anim Prod 66:270-273.

Sempéré AJ, Boissin J, 1981. Relationship between antler development and plasma androgen concentrations in adult roe deer (*Capreolus capreolus*). J Reprod Fert 62:49-53.

Shi ZD, Barrel GK, 1992, Requirement of thyroid function for the expression of seasonal reproductive and related changes in red deer (*Cervus elaphus*) stags. J Reprod Fertil 94:251-259.

Soler AJ, Astore V, Sestelo A, Rivolta M, Jácome LN, Garde JJ, 2003. Effect of thawing procedure on cryosurvival of deer spermatozoa: work in progress. Theriogenology 60:511-520.

Soppela, P., Seppo S., Heiskari, U., Nieminen, M. 2008. The effects of wintertime undernutrition on plasma leptin and insulin levels in an arctic ruminant, the reindeer. Comp Biochem Physiol Part C: Toxicol Pharmacol Endocrinol 149:613-621.

Sunrise Sunset Calendar, 2011. Disponible en: [http://www.sunrisesunset.com/custom\\_srss\\_calendar.asp](http://www.sunrisesunset.com/custom_srss_calendar.asp). Fecha de consulta: 20/2/11.

Suttie JM, Fennessy PF, Corsob ID, Veenvliet BA, Littlejohn RP, Lapwood KR, 1992. Seasonal pattern of luteinizing hormone and testosterone pulsatile secretion in Young adult red deer stags (*Cervus elaphus*) and its association with the antler cycle. J Reprod Fert 95:925-933.

Tarifa T, 1993. Situación de la especie en Bolivia. En: Population and habitat viability assessment for the pampas deer *Ozotoceros bezoarticus*. Reunión informativa. IUCN. Rocha, Uruguay. pp 171.

Thiéry JC, Chemineau P, Hernandez X, Migaud M, Malpaux B, 2002. Neuroendocrine interactions and seasonality. Dom Anim Endocrinol 23:87-100

Thornback J, Jenkins M, 1982. The IUCN mammal red data book. Part II. IUCN, Gland, Suiza.

Thrun LA, Dahl GE, Evans NP Karsch FJ, 1997. A critical period for thyroid hormone action on seasonal changes in reproductive neuroendocrine function in the ewe. Endocrinology 38:3402-3409.

Tomás WM, 1988a. Nota sobre a troca das galhadas pelo cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) e pelo veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*). XV Congresso Brasileiro de Zoologia. Paraná. Brasil. pp 539.

Tomás WM, 1988b. Epocas de concepcao e nacimentos do veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) no pantanal matogrossense. XV Congresso Brasileiro de Zoologia. Paraná. Brasil. pp 95.

Tomás WM, 1995. Seasonality of the antler cycle of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) from the Pantanal Wetland, Brazil. St Neotr Fauna Env 30:221-227.

Uhart MM, Vila AR, Beade MS, Balcarce A, Karesh WB, 2003. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyu, Wildlife Reserve, Argentina. J Wildlife Dis 39:887-893.

UICN, 2011. The IUCN red list of threatened species. *Ozotoceros bezoarticus ssp. uruguayensis*. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/apps/redlist/details/15803/0>. Fecha de consulta: 22/01/2011.

Umapathy G, Sontakke SD, Reddy A, Shivaji S, 2007. Seasonal variations in semen characteristics, semen cryopreservation, estrus synchronization, and successful artificial insemination in the spotted deer (*Axis axis*). Theriogenology 67:1371-1378

Ungerfeld R, Bielli A, González-Pensado S, Villagrán M, González-Sierra TU, 2008a. Antler size and weight in a herd of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) Mamm Biol. 73:478-481.

Ungerfeld R, González-Pensado S, Bielli A, Villagrán M, Olazabal D, Pérez W, 2008b. Reproductive biology of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*): a review. Acta Vet Scand. 50:16

Ungerfeld R, González-Sierra UT, Piaggio J, 2008c. Reproduction in a semi-captive herd of pampas deer *Ozotoceros bezoarticus*. Wildl Biol 14:350-357.

Ungerfeld R, Villagrán M, González-Pensado S, 2011. Antler weight and body weight relationship in adult and young pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) males. Enviado.

Van Der Eemas KL, Brown RD, Gundberg CM, 1988. Circulation levels of 1,25 dihydroxyvitamin D, alkaline phosphatase, hydroxyproline and osteoclastin associated with antler growth in white-tailed deer. Acta Endocrinol (Copenh) 118:407-414.

Versiani NF, Pereira RRJ, Duarte BJM, 2009. Annual variations in fecal androgen metabolites and antler cycle of captive red brocket bucks (*Mazama americana*) in southeast Brazil. Eur J Wildl Res 55:535-538.

Vila A, Beade M, 1997. Situación de la población del venado de las pampas en la Bahía Samborombón. Boletín Técnico 37, Fundación Vida Silvestre (Argentina). pp 30.

Villagrán, M. 2009. Evolución del comportamiento alimenticio del venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758) en semicautiverio durante las 12 primeras semanas de vida. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

Weber M, González S, 2003. Latin American deer diversity and conservation: A review of status and distribution. Ecoscience 10:443-454.

West NO, Nordan HC, 1976. Hormonal regulation of reproduction and the antler cycle in the male Columbian black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*) Part I. Seasonal changes in the histology of the reproductive organs, serum testosterone, sperm production, and the antler cycle Can J Zool 54:1617-1636.

XiuXiang M, QiSen Y, Lin X, ZuoJian F, YingWen J, PeiMing W, 2003. The temporal estrous patterns of female alpine musk deer in captivity. Appl Anim Behav Sci 82:75-85.