

**TESIS DE DOCTORADO  
PEDECIBA**

**Estructura poblacional y biología reproductiva del tucutucu de Río Negro (*Ctenomys rionegrensis*): relaciones entre el comportamiento y los procesos evolutivos**

**Bettina Tassino**

**Orientador: Dr. Enrique Lessa**

**2006**

## INDICE

---

Agradecimientos	4
Resumen	6
Introducción	8
La selección sexual y los procesos de especiación rápida	9
Especiación rápida en <i>Ctenomys</i>	12
El caso de <i>Ctenomys rionegrensis</i>	15
Hipótesis general	16
Objetivo	16
Estrategia de investigación	17
Capítulo I- Estructura poblacional y uso del espacio	19
Antecedentes	19
Métodos	22
Resultados	26
Densidad y estimación de tamaño poblacional	27
Estructura etaria	28
Proporción sexual	29
Polimorfismo cromático	30
Distribución espacial	30
Áreas de actividad y dispersión	31
Discusión	35
Polimorfismo cromático y predación	39
Estructura espacial y organización social	40
Capítulo II- Biología reproductiva de las hembras: estacionalidad y ciclo de estro	43
Antecedentes	43
Métodos	45
Muestreo y mantenimiento de animales	45
Citología vaginal	47
Ciclo estral y comportamiento	47
Resultados	48
Dimorfismo sexual	48
Estacionalidad reproductiva	49
Reabsorción y aborto	56
Citología vaginal y ciclo estral	56
Inducción hormonal al estro	59
Receptividad de las hembras al apareamiento	59
Madurez sexual y longevidad	60
Estacionalidad reproductiva y comportamiento	60
Discusión	62
Dimorfismo sexual	63
Determinación de la edad y estado reproductivo de los individuos	64
Estacionalidad reproductiva	65
Ciclo estral	70
Capítulo III- Comportamiento sexual: cortejo y cópula	73
Antecedentes	73
Métodos	75
Resultados	78
Patrón general del comportamiento sexual	78
Análisis de la secuenciación del comportamiento	83
Variación temporal a lo largo del enfrentamiento	86
Comparación entre parejas melánicas y agutí	88
Discusión	91
Estructura general del comportamiento sexual	91
Secuencia de comportamiento	96
Patrón copulatorio	97
Comparación entre las dos variantes cromáticas	98

Capítulo IV- Preferencias de apareamiento	
Antecedentes	100
Métodos	102
Pruebas de preferencia de apareamiento 2002-2003	102
Pruebas de preferencia de apareamiento con hembras en estro- 2004	105
Resultados	107
Pruebas de preferencia 2002-2003	107
Pruebas de preferencia con hembras en estro- 2004	109
Comparación entre pruebas	112
Discusión	114
Conclusiones y perspectivas	119
Bibliografía	123

## AGRADECIMIENTOS

---

Esta tesis es producto de trabajo colectivo, donde en diversas formas y en diferentes momentos muchísimas personas se involucraron en este proyecto metiendo cabeza, cuerpo, corazón. Para todos los que colaboraron y estuvieron presentes de tantas maneras, mil gracias.

Enrique Lessa apoyó y guió esta investigación confiando siempre, constituyéndose en un referente y un maestro.

Aportes de los miembros del tribunal que juzgó esta tesis, Omar Macadar, Alvaro Novello y Mauricio Lima mejoraron la versión preliminar del manuscrito.

Gabriela Wlasiuk, Caco Passos, Verónica Quirici, Ciro Invernizzi, Paula Altesor, Victoria Calvo, Ignacio Estevan, Ramiro Pereira y Tito Olivera integraron el equipo capaz de transformar lo sacrificado y duro del trabajo de campo, en un disfrute compartido a lo largo de 5 años. Además Ivanna Tomasco, Graciela Izquierdo, Gabriela Varela, Felipe García, Macarena Sarroca, Ana Vázquez y María Noel Cortinas colaboraron en diferentes ocasiones en las capturas de animales.

Caco Passos se puso al hombro usas cuantas tareas: desde el diseño del dispositivo experimental de las pruebas de preferencia, hasta poner a prueba el protocolo de inducción hormonal al estro. Su aporte fue imprescindible y su presencia un apoyo constante.

Victoria Calvo, Caco Passos, Ignacio Estevan y Paula Altesor analizaron horas de video, procesaron datos y discutieron resultados de esta tesis en el marco de sus pasantías de grado.

Eileen Lacey (Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley) nos prestó los equipos de radioteleetría, y asistió la interpretación de los datos obtenidos. Ramiro Pereira, Paula Altesor, Ignacio Estevan, Virginia Pereyra, Andrés Ligrone, Florencia Rivas y Marcos Bozzolasco participaron en el muestreo distribución espacial mediante radioteleetría. Ramiro Pereira además, analizó los datos de distribución espacial.

En general todos los compañeros del piso 6 de la Facultad de Ciencias, se mantuvieron atentos a los avances y dificultades de este trabajo, alentando siempre.

Daniela Agratti nos apoyó con bibliografía, tiempo y material necesarios para establecer un protocolo de inducción artificial al estro a las hembras. Annabel Ferreira colaboró en el tratamiento estadístico de los datos de las pruebas de preferencia. Matías Arim arrojó luz sobre los resultados de la captura-marcaje y recaptura.

Ana Silva y Felipe García leyeron atenta y pacientemente el manuscrito original, aportando valiosas correcciones y sugerencias.

Santiago Pereira y José Botta permitieron que el trabajo de campo se desarrollara en sus establecimientos rurales "El Rincón" y "El Tabaré" respectivamente, mientras Guillermo Morgan ofició de nexo y contacto.

La Intendencia Municipal de Río Negro brindó alojamiento y lugar donde realizar experiencias, lo que nos permitió instalar un "laboratorio de campo" en el Complejo Municipal de Las Cañas. Agradezco especialmente al personal de dicho Complejo por su constante amabilidad y buena disposición durante nuestra estancia.

Pedeciba apoyó esta investigación al otorgarme una beca durante los dos primeros años y la CSIC financió un proyecto que permitió culminar el trabajo.

Tano, Mima, Aida, Rosario, Gustavo, Silvana, Cecilia, Stella hicieron cadenas, viandas, ayudaron en los deberes y cuidaron niños mientras yo estaba en el campo o escribía la tesis.

Dedico este trabajo  
a Gustavo, mi compañero  
a Agustina, Emilia y Manuel, mis hijos  
a Aida, mi madre

---

## RESUMEN

---

Los conceptos de especie así como los procesos y mecanismos que conducen a la formación de estas entidades biológicas, han generado controversia y se encuentran actualmente en una fase de fuerte revisión, renovándose el interés por comprender el papel relativo de la deriva genética y la selección positiva (natural *sensu stricto* y sexual) como agentes promotores de la divergencia poblacional que conduce a la especiación. Debido al gran potencial de la selección sexual como agente especiador, al afectar directamente caracteres vinculados con la reproducción, especialmente en el reconocimiento de parejas y el éxito reproductivo diferencial de los individuos, no sorprende la atención que la misma despierta en el marco de esta discusión. Los grupos que evidencian altas tasas de especiación, y dentro de ellos a su vez las especies que exhiben variación intraespecífica son de particular interés en este sentido.

Dentro de los roedores subterráneos sudamericanos, el género *Ctenomys*, que se conoce localmente con la denominación de tucu-tucus, ha sido considerado como uno de los ejemplos más claros de especiación explosiva e inclusive de selección de especies. Altamente polítipo, con al menos 56 especies descritas es el género más diverso de roedores sudamericanos, y debido a su reciente origen de alrededor de 3 Ma, se lo considera uno de los casos de diversificación más rápida entre los mamíferos. De distribución neotropical entre los 17 y 54° de latitud Sur, los tucu-tucus ocupan un enorme rango de ambientes que incluyen desde estepas a 4000 m de altura en el altiplano andino, hasta dunas costeras sobre la costa atlántica, praderas y desiertos. De las tres especies de *Ctenomys* presentes en Uruguay, *C. rionegrensis* ha sido considerado un interesante modelo biológico para comprender los procesos de diferenciación poblacional debido a su marcado polimorfismo cromático en un área geográfica muy restringida. En este contexto, nuestra hipótesis general es que los pelajes agutí y melánico del tucu-tucu de Río Negro, constituyen “fenotipos alternativos” cuyo balance en las poblaciones depende de equilibrios entre selección natural y sexual. El objetivo central de esta investigación fue conocer cuál es el papel de la selección sexual, actuando fundamentalmente a través de las preferencias de apareamiento de las hembras, sobre los mecanismos que habilitan la fijación y mantenimiento de estos “fenotipos alternativos” en las distintas poblaciones de *C. rionegrensis*.

En esta investigación se integra el análisis de la estructura poblacional y las interacciones sociales emergentes, la estacionalidad reproductiva con la descripción del ciclo estral de las hembras, la caracterización del comportamiento sexual y los sesgos de apareamiento a través de las preferencias de las hembras. La captura múltiple de juveniles y adultos no emparentados, las áreas de actividad solapadas entre individuos y alta tolerancia a la presencia de coespecíficos, sostienen la idea de que la población estudiada, exhibe un patrón de uso del espacio diferente al de los tucu-tucus solitarios y territoriales. El período reproductivo es relativamente largo, con un pico de nacimientos en la primavera que habilita a través de un estro post-parto en las hembras, a que se produzcan dos camadas al año. Los diferentes patrones en el comportamiento de cortejo y cópula

en las formas agutí y melánica sustentan la posibilidad de que el melanismo sea causado por un alelo del tipo “non-agouti”, ya que las consecuencias comportamentales que produce en otros roedores son coincidentes con las documentadas en este estudio. La variabilidad intraespecífica en caracteres vinculados a la reproducción, y principalmente aquellos que, por estar involucrados en los sistemas de reconocimiento de pareja pueden ser sexualmente seleccionados, juega un papel crítico en los procesos de diferenciación poblacional. Por otro lado, los apareamientos no están sesgados en función de elecciones homocromáticas, sino que los machos agutí son preferidos por las hembras de ambos fenotipos. El mayor tamaño corporal de los machos y la proporción sexual sesgada hacia las hembras son buenos indicadores de la competencia masculina por el acceso a las parejas. La distribución temporal asincrónica de la receptividad en las hembras favorece la monopolización de los apareamientos aumentando la intensidad de la selección intrasexual, y habilitando el establecimiento de sistemas de apareamiento poligínicos.

---

## INTRODUCCIÓN

---

La especie, uno de los conceptos de mayor utilización en la biología moderna, se considera la unidad central en evolución y ecología en particular. Uno de los mayores problemas en este sentido se genera en torno a determinar cómo un proceso continuo de cambios puede producir grupos discretos a los que denominamos especies (Coyne 1987, Butlin y Ritchie 1994). Por este motivo, tanto los conceptos de especie como los procesos y mecanismos que conducen a la formación de estas entidades biológicas, han generado controversia y se encuentran actualmente en una fase de fuerte revisión (Schutler 1998, 2001; Coyne y Orr 2004). En parte, esto se debe a nuevas capacidades de análisis de la especiación aportadas por la genética molecular, pero también a importantes desarrollos conceptuales en los principales campos pertinentes al problema, como son la sistemática (Barraclough y Nee 2001) y la genética de poblaciones (Nordborg 2000, Stalkin 1993, Steinberg y Patton 2000). De todas maneras, a partir de la formulación del concepto biológico de especie (Mayr 1963), cualquier análisis acerca del origen de las especies se centra en los mecanismos de aislamiento reproductivo (Harrison 1998). Este aislamiento, al impedir el flujo génico, define las fronteras de la comunidad reproductiva y preserva la integridad de su acervo genético (Templeton 1989).

Este concepto de especie deriva de la idea de Mayr (1963) acerca de que el aislamiento geográfico es condición imprescindible en el proceso de formación de nuevas especies biológicas, tanto al producirse una lenta y gradual divergencia en grandes poblaciones o como resultado de “revoluciones genéticas” en pequeñas poblaciones aisladas en la periferia. De cualquier forma, en ambos casos la especiación resulta de la divergencia pasiva de las poblaciones en condiciones de estricta separación geográfica, aunque los mecanismos de aislamiento primarios así adquiridos puedan reforzarse por selección a favor de un aislamiento más eficaz, una vez que las especies incipientes entran en contacto secundario. En este sentido, el aislamiento reproductivo entre especies involucra factores que afectan tanto el establecimiento de la pareja (precopulatorios) como la formación del cigoto y la viabilidad de los híbridos en diferentes etapas de desarrollo (postcopulatorios). Mientras los últimos son producto de la divergencia, los primeros se generan según Dobzhansky (1951), por selección natural promoviendo el ahorro de tiempo y energía al evitar eventos reproductivos poco exitosos. Este clásico énfasis en la

interrupción del flujo génico, relega a un segundo plano el papel del ambiente y la acción de la selección en la formación de nuevas especies.

Recientemente, se ha renovado el interés por comprender el papel relativo de la deriva genética y la selección positiva (natural *sensu stricto* y sexual) como agentes promotores de la divergencia poblacional que conduce a la especiación. Aunque la evidencia empírica a favor de la especiación simpátrida es aún escasa, se reconoce la importancia de la selección sexual y las diferencias ecológicas entre poblaciones en estos procesos (Via 2001). Por ejemplo, la adaptación a distintos recursos alimentarios a través de la selección natural sin aislamiento geográfico (Schluter 1996, Rundle et al. 2000) y la acción de la selección sexual exclusivamente (Seehausen et al. 1997, 1998), o asociada a selección natural (Jiggins et al. 2001), reportadas en diferentes grupos zoológicos, implican considerar con mayor amplitud las fuerzas que operan en el proceso de formación de especies. Cualquiera de estos mecanismos es capaz de producir una diferenciación mucho más rápida que la divergencia pasiva postulada por Mayr (1963). Así, como ejemplo, en lagartijas de bosques tropicales australianos se ha registrado mayor divergencia adaptativa y consecuente diversidad fenotípica en un gradiente ecológico de hábitats diferentes, que en ambientes similares aislados geográficamente (Schneider et al. 1999).

Del punto de vista conceptual, West-Eberhard (1986, 2003) ha realizado una interesante contribución al señalar que en muchas especies biológicas pueden existir “fenotipos alternativos” o formas discretas que representan distintos modos de vida, que a la larga pueden fijarse en diferentes poblaciones y pasar a caracterizar especies plenas. En algunos casos, puede partirse inclusive de variaciones plásticas, que bajo selección pueden llegar a consolidarse por “asimilación genética”.

### La selección sexual y los procesos de especiación rápida

Darwin (1871) definió a la selección sexual como el “proceso especial que modela los mecanismos anatómicos, fisiológicos y de comportamiento que tienen lugar poco antes o al mismo tiempo que el apareamiento y son útiles en el proceso de obtener pareja”. La formulación de este nuevo concepto le permitió explicar el origen y la evolución de los caracteres sexuales secundarios, generalmente muy conspicuos y acompañados de despliegues comportamentales, presentes en los machos de muchas especies. De esta manera las estructuras morfológicas o los comportamientos que los machos utilizan en la

competencia entre ellos o para atraer hembras con las que aparearse, se relaciona básicamente con el éxito reproductivo que confieren a los individuos que los ostentan. Estos caracteres denominados epigámicos (Huxley 1939), a pesar de ser costosos en relación a la viabilidad y sobrevivencia general de los individuos que los poseen, les confieren entonces una ventaja. El análisis de diferentes aspectos de la selección sexual y el conflicto de intereses entre los sexos ha tenido un importante desarrollo en las últimas décadas (Krebs y Davies 1984, Andersson 1994, Andersson y Iwasa 1996, Andersson y Simmons 2006). En general, se reconoce que la selección sexual involucra varios mecanismos diferentes entre los que se destacan la elección de pareja y la competencia intrasexual.

Dos de las hipótesis sobre los aspectos que determinan la elección de las hembras y la evolución de los caracteres en los machos han recibido la mayor atención. La primera, propuesta por Fisher (1930) plantea la idea de una “corrida descontrolada” que determina el desarrollo de caracteres cada vez más exagerados en los machos por ser simplemente atractivos para la hembra, sustentada por la coevolución entre el carácter y la preferencia de las hembras, así como por la heredabilidad de ambos. Se ha generado un importante apoyo teórico a esta explicación, en base a modelos genéticos y matemáticos (O’Donald 1962, Lande 1981, Kirkpatrick 1982). La segunda, llamada “hipótesis del handicap”, originalmente planteada por Zahavi (1975), establece que los costosos ornamentos y despliegues, al ser desventajosos en términos de viabilidad general, son reveladores de la calidad genética de los individuos que los ostentan, criterio sobre el que se basa la elección de las hembras. El origen de las preferencias de las hembras, sigue siendo, sin embargo, tema de debate (Kirkpatrick y Ryan 1991). Las hipótesis de explotación sensorial (Kirkpatrick 1987, Ryan 1990, Basolo 1990, 1996; Endler y Basolo 1998) brindan vías complementarias para entender el establecimiento de caracteres exagerados en los machos. En este sentido sesgos sensoriales preexistentes en las hembras, producto de procesos evolutivos independientes de la selección sexual, pueden jugar a favor del establecimiento de un carácter masculino en el que estén implicados los estímulos sobre los que existe predisposición sensorial. Este proceso posee un enorme potencial, tanto para generar como para diseminar innovaciones.

Los estudios sobre selección sexual se han centrado en comprender la dinámica reproductiva y los sistemas de apareamiento, así como las estrategias alternativas dentro de cada sexo (Gross 1996, Davies 1991, Shuster y Wade 2003). Además, a partir del aporte de Parker (1970) se han abierto nuevas rutas de investigación sobre su influencia

aun luego de la cópula. Inicialmente, la evolución de caracteres como la morfología genital masculina y el volumen de eyaculación fueron atribuidos a la selección sexual postcopulatoria por competencia espermática (Parker 1970, Birkhead y Parker 1997). Aunque el apareamiento múltiple de las hembras es un prerrequisito para la competencia espermática, recién en la última década la selección sexual postcopulatoria se ha considerado desde la perspectiva femenina, y consecuentemente se ha percibido su potencialidad de sesgar la paternidad a favor de alguno de los machos a través de mecanismos de elección críptica (Birkhead y Moller 1993, Eberhard 1996). Por otro lado, debido al gran potencial de la selección sexual como agente especiador, al afectar directamente caracteres vinculados con la reproducción, especialmente en el reconocimiento de parejas y el éxito reproductivo diferencial de los individuos, no sorprende la atención que la misma despierta en el marco de la discusión actual sobre los procesos de especiación (Butlin y Ritchie, 1994, West-Eberhard 1983, Price 1998, Panhuis et al. 2001).

A pesar de que algunos modelos postulan a la selección sexual como el único agente promotor de divergencia, inclusive en simpatría y donde el ambiente no juega ningún papel en el establecimiento del aislamiento reproductivo (Lande 1981, van Doorn et al. 1998), la mayoría de las propuestas involucran la interacción con factores ecológicos (Lande y Kirkpatrick 1988) y con otros procesos selectivos (Turner y Burrows 1995). Dentro de este perfil, Payne y Krakauer (1997) proponen un modelo con dos fenotipos masculinos que presentan mortalidad diferencial y están ligados genéticamente a preferencias en las hembras. El fenotipo con mayor mortalidad posee menor éxito reproductivo, ya que mayor número de hembras prefieren a los machos del otro fenotipo. El desplazamiento de machos y hembras del fenotipo menos exitoso hacia la periferia, genera por lo tanto, estructuración espacial en la población. Aunque se han propuesto varios modelos alternativos, existen pocos datos empíricos que los respalden y es difícil por lo tanto evaluar la frecuencia con la que ocurren estos procesos en la naturaleza. Sin embargo, los cíclidos del Lago Victoria (Seehausen et al. 1997), las moscas del género *Drosophila* de Hawaii (Boake 2000) y los peces del género *Gasterosteus* (Bougham 2001) constituyen interesantes modelos biológicos cuyo estudio ha aportado evidencia a favor de que la divergencia y la especiación puedan ser promovidas por selección sexual.

Las interacciones ecológicas y la selección natural y sexual pueden ser responsables de gran parte de la diversidad biológica actual, independientemente del papel que haya jugado la geografía en las poblaciones, por lo que los estudios de especiación deberían

enfocarse a los mecanismos que originan las diferencias y a la acción de la selección en los mismos (Via 2001). De hecho, Paterson (1985) ha argumentado que el aislamiento es una función irrelevante en el proceso de especiación y consecuentemente, planteado el concepto de reconocimiento donde el énfasis está en el intercambio genético dentro de las especies en lugar de centrarse en el aislamiento entre especies (Butlin y Ritchie 1994, Sampson 1999). En un marco teórico donde el acento se pone en la cohesión, el estudio de las señales de reconocimiento, y por lo tanto el papel de la “selección por reconocimiento de pareja” (Sampson 1999), cobran particular relevancia para entender los procesos macroevolutivos. La competencia por parejas facilita la aparición de divergencias en las señales de reconocimiento, por lo que la selección sexual y los cambios en estas señales, podrían tener un papel importante en la determinación de la diversidad dentro de los clados dado su enorme potencial para generar innovaciones evolutivas (West-Eberhard 1983, Sampson 1999). La especiación rápida podría verse mediada, entonces por procesos de selección natural *sensu stricto* y sexual, a partir de cambios en los patrones comportamentales que comprometen los sistemas de reconocimiento de pareja.

En síntesis, en la actualidad existe un gran interés por conocer cómo la selección natural, la selección sexual y la divergencia no adaptativa se asocian a los procesos de formación de nuevas especies. Esto lleva, a su vez, a procurar comprender cómo dichos procesos operan dentro de las especies. Los grupos que evidencian altas tasas de especiación, y dentro de ellos a su vez las especies que exhiben variación intraespecífica son de particular interés en este sentido.

### Especiación rápida en *Ctenomys*

Dentro de los roedores subterráneos sudamericanos (Cuadro 1), el género *Ctenomys*, que se conoce localmente con la denominación de tucu-tucus, ha sido considerado como uno de los ejemplos más claros de especiación explosiva (Reig et al. 1990), e inclusive de selección de especies como plantean Vrba y Gould (1986). Altamente politípico, con al menos 56 especies descritas (Reig et al. 1990, Pearson y Christie 1985, Kelt y Gallardo 1994) es el género más diverso de roedores sudamericanos, y debido a su reciente origen de alrededor de 3 millones de años (Cook et al. 2000, Verzi 2002) se lo considera uno de los casos de diversificación más rápida entre los mamíferos. El registro molecular detecta un pulso de especiación muy temprano en la diferenciación del género (D'Elía et al. 1999, Lessa y Cook 1998) con una tasa de diversificación mayor respecto a otros octodontoideos en base a información independiente proveniente de datos de genes nucleares y

mitocondriales (Cook y Lessa 1998, Slamovits et al. 2001, Castillo et al. 2005). Con respecto a la evolución cariotípica, se observa una importante diversidad cromosómica entre especies (Anderson et al. 1987), en un rango entre  $2n=10$  (*C. steinbachi*) y  $2n=70$  (*C. pearsoni*) (Cook et al. 1990, Ortells 1995, Reig et al. 1990), que ha llevado a postular un proceso de “especiación cromosómica”.

#### **Cuadro 1. Los roedores subterráneos**

El ecotopo subterráneo se caracteriza por ser un sistema esencialmente cerrado, con microclima relativamente estable, altamente especializado y de baja productividad. Presenta, además, una alta predictibilidad en comparación al medio de superficie en algunos aspectos físicos y bióticos (Nevo 1979, 1995). Es un ambiente simple, discontinuo espacialmente y con bajos riesgos de depredación (Nevo 1979). Estas características inducen, en las especies que lo habitan, tendencias a una marcada especialización en su modalidad de vida, a una fuerte competencia inter e intraespecífica y al aislamiento interpoblacional (Nevo 1979). Dentro del Orden de los Roedores, son diversos los linajes que han desarrollado formas subterráneas que se distribuyen en todas las regiones biogeográficas, con excepción de Australia y la Antártida: 1) la familia Bathyergidae, en Africa, con los géneros *Bathyergus*, *Cryptomys*, *Georychus*, *Heliophobius* y *Heterocephalus*; 2) los Geomyidae de Norte y Centro de América, con los géneros *Geomys*, *Heterogeomys*, *Macrogeomys*, *Orthogeomys*, *Pappogeomys*, *Thomomys*, *Zygogeomys*; 3) los Spalacidae de Asia, Europa y norte de Africa, con su único género *Spalax*; 4) los Rhizomyidae, de Africa y sureste asiático, géneros *Rhizomys*, *Cannomys* y *Tachyoryctes*; 5) algunos Muridae asiáticos, géneros *Myospalax*, *Ellobius*, *Prometheomys*. 6) En la región Neotropical, este ecotopo corresponde a los roedores de la familia Octodontidae, dentro de la cual existen géneros fosoriales (*Aconaemys*), y subterráneos (*Spalacopus* y *Ctenomys*). *Aconaemys* y *Spalacopus* son géneros de distribución muy restringida, el primero a la región periandina argentino-chilena (Pearson 1983) y el segundo a la región central de Chile (Reig 1970). Por el contrario *Ctenomys*, está ampliamente distribuido y es un género altamente politépico (Reig et al. 1990). Algunos autores ubican a *Ctenomys* en la familia Ctenomyidae, separada de Octodontidae.

Estos grupos comparten una serie de adaptaciones convergentes, derivadas de la adaptación al ecotopo subterráneo (Nevo 1979, 1995, Lacey et al. 2000), aunque también divergen considerablemente en su organización social, con especies estrictamente solitarias, algunas coloniales y al menos tres especies eusociales de Bathyergidae africanos (Lacey 2000 y ref.). La mayoría de las adaptaciones morfológicas, se relacionan con la actividad excavatoria (Stein 2000 y ref.). Las respuestas ecofisiológicas se vinculan a las restricciones impuestas por la vida en sistemas de galerías cerrados en condiciones de hipoxia e hipercapnia (McNab 1966, 1979, Buffenstein 2000 y ref.). De todas maneras se registra un amplio rango de soluciones respecto a la comunicación (Francescoli 2000 y ref) y reproducción (Bennett et al. 2000 y ref.). En general, los roedores subterráneos se comportan como estrategas K, se estructuran en poblaciones semi-aisladas, relativamente pequeñas o subdivididas (Busch et al. 2000 y ref.)

De distribución neotropical entre los 17 y 54° de latitud Sur, los tucu-tucus ocupan un enorme rango de ambientes que incluyen desde estepas a 4000 m de altura en el altiplano andino, hasta dunas costeras sobre la costa atlántica, praderas y desiertos. Este amplio espectro de hábitats en que se encuentran, está mediado por la vida subterránea, ya que los sistemas de galería que construyen y habitan establecen un microclima con humedad y temperatura relativamente constantes e independientes de las condiciones externas (Altuna 1991, Sumner et al. 2004). Son típicamente solitarios, con ocupación individual de las cuevas, aunque se han reportado especies en que individuos adultos comparten el sistema de túneles (Pearson 1959, Pearson y Christie 1985, Lacey et al. 1997). De dieta herbívora estricta, consumen principalmente gramíneas (Comparatore et al. 1995, Tassinio 1999, del Valle et al. 2001) obtenidas tanto en la superficie como desde el interior de las cuevas.

En nuestro país se ha abordado el problema de la especiación en el género, descifrando los patrones macroevolutivos vinculados principalmente a tasas y tiempos de diversificación, generando filogenias moleculares basadas en genes mitocondriales y nucleares (Cook y Lessa 1998, Lessa y Cook 1998, D'Elía et al. 1999, Slamovits et al. 2001, Castillo et al. 2005). Por otro lado se ha realizado una aproximación desde la perspectiva microevolutiva, que permite entender cómo ocurren los procesos de diferenciación a nivel poblacional (D'Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2003, Lessa et al. 2005).

En el Uruguay, existen tres especies de *Ctenomys* (Altuna y Lessa 1985, Tomasco y Lessa en prensa): *C. torquatus* Lichtenstein 1830, *C. rionegrensis* Langguth y Abella 1970 y *C. pearsoni* Lessa y Langguth 1983, mientras que otras formas de la costa platense-atlántica han sido agrupadas en el "complejo *C. pearsoni*" (*sensu* Altuna y Lessa 1985), cuyo estado taxonómico es aún controversial (D'Elía et al. 1992, Tomasco 2003, Tomasco y Lessa en prensa). Aunque la información sobre *C. torquatus* es escasa (Barlow 1969), se han realizado numerosas investigaciones en las otras dos especies. En el "complejo *C. pearsoni*", se ha insistido en el estudio de diferentes poblaciones desde la perspectiva de la ecología del comportamiento (Altuna et al. 1999), aportando al conocimiento de la estructura y microclima de las cuevas (Altuna 1991, Altuna et al. 1993), así como a la caracterización de los ambientes en los que ocurre (Izquierdo et al. 1991). El análisis de las preferencias alimentarias (Tassinio 1999) y la descripción de las pautas comportamentales de ingestión y reingestión (Altuna et al. 1998), ha permitido una aproximación importante a los mecanismos implicados en la conducta alimentaria. Se ha

profundizado en las estrategias de comunicación, principalmente acústicas, aportando información acerca de las señales involucradas en la exclusión territorial y en el apareamiento (Francescoli 1992, 1998, 1999, 2002). En la comunicación química se ha determinado la importancia de glándulas perineales que complementan la marcación por orina, según postulan Altuna y Corte (1989). También se han analizado comportamientos de alta estereotipia e importantes del punto de vista evolutivo, como la excavación (Altuna et al. 1993) y los patrones comportamentales de cortejo y cópula (Altuna et al. 1991, Tassinio 1992). El estudio de la alta diversidad cariotípica en este grupo se ha centrado en el análisis de los mecanismos generadores de tal diversidad desde la citogenética clásica (Novello y Lessa 1986, Novello y Altuna 2002, Villar et al. 2005) hasta un enfoque filogeográfico a partir del estudio de la variación del ADN mitocondrial (Tomasco 2003, Tomasco y Lessa en prensa).

En particular, *C. rionegrensis* ha sido considerado un interesante modelo biológico para comprender los procesos de especiación rápida, por lo que se ha enfatizado en el análisis genético-poblacional (D'Elía 1996, D'Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2003, Lessa et al. 2005), mientras se desconocen aún aspectos importantes de la biología general de estos organismos.

#### El caso de *Ctenomys rionegrensis*

Desde su descripción, originalmente como una subespecie uruguaya de *C. minutus* (Langguth y Abella 1970a, 1970b), el tucu-tucu de Río Negro ha generado interés debido a su marcado polimorfismo cromático en un área geográfica muy restringida. Se registran tres variantes en el color del pelaje: melánico, agutí y “de dorso-oscuro” (Langguth y Abella 1970, Altuna et al. 1985), con poblaciones “puras” para cada una y poblaciones polimórficas para diferentes combinaciones de dos o inclusive, los tres pelajes (D'Elía et al. 1998 y ref.) (Fig 1). Los fenotipos extremos (agutí y melánico) coexisten en varias poblaciones sin que se encuentren individuos intermedios, evidencia de que estamos frente a caracteres discretos, seguramente de base genética simple. El área de distribución total de esta especie en Uruguay, es de 30x50 km al suroeste del departamento mencionado, restringiéndose a arenales, principalmente litoraleños, o a suelos de alta proporción de arena.

En general, una buena correspondencia entre el color del pelaje y el del sustrato se plantea como estrategia andidepredadora (Endler 1978, Nachman et al. 2003, Caro 2005)

aún en roedores subterráneos (Heth et al. 1988, Patton y Smith 1990). En *C. rionegrensis*, esta correspondencia se verifica para los individuos agutí y dorso oscuro, pero el pelaje melánico contrasta claramente con los suelos arenosos a los que la especie se restringe. Una hipótesis propuesta para explicar el origen y mantenimiento del melanismo, se basa en la capacidad de la deriva genética de fijar alelos neutros o aún no adaptativos (Langguth y Abella 1970, Altuna et al. 1985). D'Elía et al. (1998) determinaron, en base a análisis con alozimas, altos valores de flujo génico entre poblaciones que impedirían la fijación local del carácter por deriva genética y postularon como alternativa, que el polimorfismo cromático se podría mantener por selección natural, incluyendo la selección sexual. Estudios posteriores, en base a microsatélites y marcadores mitocondriales, sugieren una sobrestimación de los niveles de migración entre poblaciones reportados anteriormente, e indican una fuerte subdivisión poblacional en unidades discretas, con variación independiente en las frecuencias alélicas (Wlasiuk et al. 2003, Lessa et al. 2005). En este sentido, si los niveles de flujo génico son bajos, la fijación local de alelos, entre ellos los responsables del polimorfismo cromático, podría ocurrir por deriva genética, aún más si los tamaños poblacionales son pequeños. De todas maneras, estos resultados no impiden considerar la acción de la selección sobre algunos caracteres. Por otro lado, ambos trabajos son coincidentes en reportar que las poblaciones locales se apartan del equilibrio Hardy-Weinberg y exhiben un exceso de homocigotas, lo que sugiere subdivisión reproductiva local, posiblemente debida a apareamientos no aleatorios (D'Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2003). Como se aprecia, el análisis de procesos microevolutivos, ha permitido poner a prueba hipótesis acerca de cómo pueden ocurrir diferenciación rápida a nivel poblacional. Frente a estos datos, los estudios de las bases genéticas responsables del polimorfismo cromático e investigaciones directas sobre los fenotipos emergen como las claves para resolver el problema de la fijación y el mantenimiento del melanismo.

### Hipótesis general

En este contexto, nuestra hipótesis general de trabajo es que los pelajes agutí y melánico del tucu-tucu de Río Negro, constituyen “fenotipos alternativos” en el sentido de West-Eberhard (1983), cuyo balance en las poblaciones depende de equilibrios entre selección sexual y natural vinculada al éxito en la supervivencia, principalmente ante la depredación.

### Objetivos

El objetivo central de esta investigación fue conocer cuál es el papel de la selección sexual, actuando fundamentalmente a través de las preferencias de apareamiento de las

hembras, sobre los mecanismos que habilitan la fijación y mantenimiento de estos “fenotipos alternativos” en las distintas poblaciones de *C. rionegrensis*.

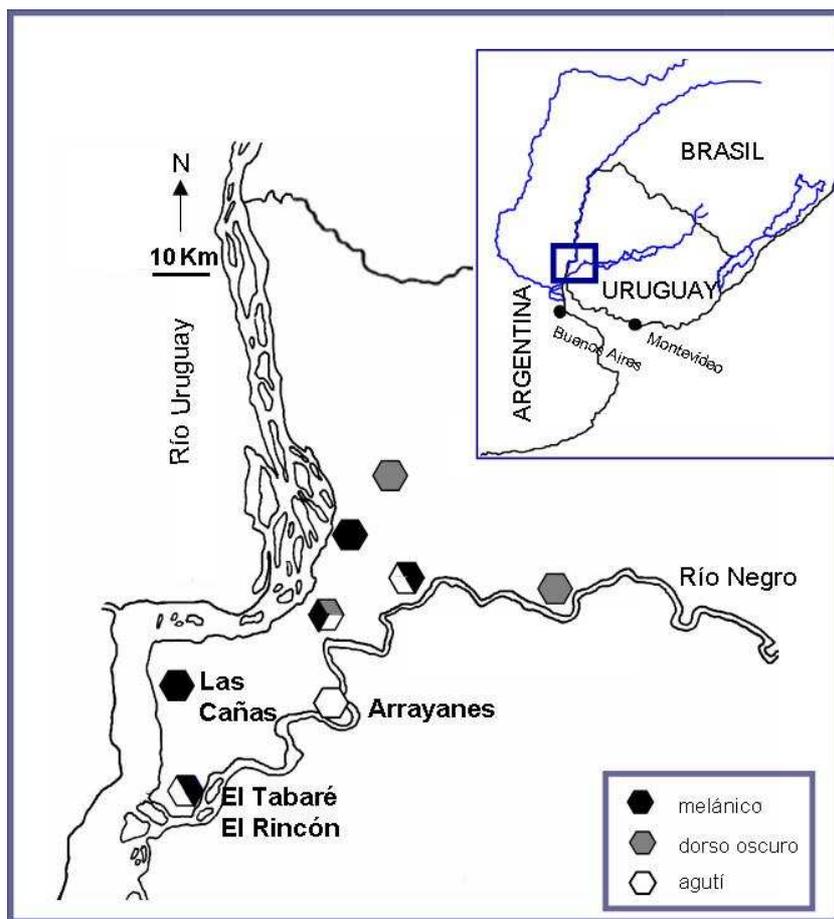
Consecuentemente, determinamos una serie de objetivos específicos que permitieran comprender las interacciones reproductivas entre los diferentes pelajes de esta especie:

1. caracterizar los patrones comportamentales implicados en el apareamiento en cada una de las formas cromáticas, y establecer la existencia de apareamientos no aleatorios, asociados al color del pelaje.
2. esclarecer diversos aspectos vinculados a la biología reproductiva de las hembras así como determinar la estacionalidad reproductiva
3. conocer la estructura poblacional y la organización social mediante el análisis de las interacciones espaciales entre los individuos.

#### Estrategia de investigación

En base a estos objetivos se diseñó una estrategia de investigación en base a sostenido trabajo de campo con seguimiento mensual de la población y experiencias en laboratorio, que facilitó la comprensión de diversos mecanismos y procesos interrelacionados, desconocidos hasta el momento en esta especie. En este sentido la amplitud del espectro de preguntas aportó una visión integradora de la historia de vida de estos organismos.

Esta tesis ordena los resultados obtenidos, presentándolos en secciones independientes. En el Capítulo I se abordan los aspectos vinculados a la distribución espacial de los individuos así como a los atributos demográficos en una población dimórfica para el color del pelaje y se propone la estructuración social que deriva de ellos. El Capítulo II se centra en la biología reproductiva de las hembras de esta especie, donde se establece la estacionalidad de las diferentes etapas de apareamiento y cría, y se determinan las fases del ciclo estral en base a trabajo de campo y laboratorio. En el Capítulo III se caracteriza el comportamiento de apareamiento de los fenotipos agutí y melánico de poblaciones puras, a través del análisis cuantitativo del cortejo y la cópula. En el Capítulo IV se explora la existencia de sesgos en las preferencias de apareamiento de las hembras frente a machos de diferente color de pelaje.



**Figura 1.** Distribución de *Ctenomys rionegrensis* en el Uruguay, con la ubicación de las poblaciones conocidas hasta el momento y su constitución en cuanto al color del pelaje de los individuos que las componen. Se identifican en el mapa e ilustran las localidades en que se trabajó en esta investigación

---

## CAPÍTULO I

### Estructura poblacional y uso del espacio

---

#### ANTECEDENTES

---

Las interacciones de los organismos con el ambiente en que habitan afectan diversos aspectos relacionados tanto con la biología de los individuos (morfología, fisiología, reproducción) como con atributos poblacionales (densidad, patrones de dispersión). Los roedores subterráneos, al construir y ocupar sistemas de galería, se constituyen además en “ingenieros del ecosistema” (Reichman y Seablom 2002) en el marco de la teoría de construcción de nicho (Odling-Smee 1988, Odling-Smee et al. 2003), con importantes consecuencias evolutivas. La construcción y mantenimiento de la cueva que habitan estos organismos, implica costos vinculados al gasto energético de la excavación (Vleck 1971) y consecuentemente a la elección del hábitat, así como ventajas en la evitación de predadores y la estabilidad microclimática (Nevo 1979, Altuna 1991, Sumbera et al. 2004). Aunque el ecotopo subterráneo impone presiones selectivas similares, las variaciones regionales de clima, suelo y vegetación generan importantes diferencias adaptativas entre poblaciones y especies (Busch et al. 2000). En ambientes húmedos, a las dificultades inherentes a la construcción de los túneles, se le suman limitantes fisiológicas generadas por las altas presiones parciales de CO<sub>2</sub> y bajas de O<sub>2</sub> (Buffenstein 2000), por lo que suelos porosos con buena cobertura vegetal se convierten en el ambiente óptimo para el establecimiento de poblaciones de roedores herbívoros subterráneos. En general estas condiciones no se encuentran uniformemente distribuidas, por lo que la mayoría de las poblaciones posee una típica disposición espacial en parches. En la medida en que múltiples individuos comparten el mismo parche de hábitat, emergen los patrones de estructura poblacional, caracterizados por diversas variables como densidad, distribución espacial y proporción de sexos, de clases de edad o de diferentes fenotipos. Además, debido a que las relaciones espaciales entre los miembros de una población proveen los fundamentos del comportamiento social, los datos vinculados a la distribución espacial de los individuos, constituyen la primera aproximación al sistema social de una especie.

La estructuración espacial y las interacciones sociales entre los individuos de una población de estos roedores pueden ser abordadas mediante el trampeo con extracción de los individuos o con marcación individual y posterior liberación (Pearson et al. 1968,

Andersen y Macmahon 1981, Pearson y Christie 1985, Smolen et al. 1980, Busch et al. 1989, Malizia 1998). El monitoreo remoto mediante radiotelemedría permite el seguimiento de los individuos y el registro tanto de sus movimientos como del uso del espacio en diferentes momentos (Lacey et al. 1997, 1998, Lacey 2000). El análisis genético aporta al conocimiento de las relaciones de parentesco y permite entender mejor las interacciones reproductivas entre los individuos (Zenuto et al. 1999, Wlasiuk et al. 2001).

El conocimiento de estos aspectos en el género *Ctenomys*, se concentra en pocas especies exhaustivamente estudiadas desde la década del `50, básicamente en Argentina, bajo la fermental influencia de O. Reig y O. Pearson (Pearson 1959, Pearson et al. 1968, Busch et al. 1989, Reig et al. 1990, Busch et al. 2000). En Uruguay, se ha analizado la estructura de las cuevas en diferentes poblaciones de *C. pearsoni* (Altuna et al. 1993, Izquierdo 1998, Tassinio 1999) y se han relevado datos acerca de la distribución espacial de los individuos en una localidad (Altuna com. pers.). El trabajo de campo de E. Lessa y colaboradores en 1999, en el que se realizó un intenso esfuerzo de muestreo en diferentes poblaciones de *C. rionegrensis* estableció las bases para el análisis de la diferenciación geográfica y genética (Wlasiuk et al. 2003) y para iniciar el estudio de los patrones de subdivisión poblacional (Wlasiuk et al. 2001, Lessa et al. 2005) con un abordaje genético-molecular. Además de proveer una importante fuente de datos, la aproximación a los animales a través del trabajo de campo sostenido, generó fuertes interrogantes en torno a la estructura social de esta especie, planteándose la posibilidad de que esta especie no sea estrictamente solitaria (Lessa et al. 2005). Estos antecedentes, sumado a los resultados provenientes de análisis de parentesco mediante marcadores microsatelitales, que reportaron la presencia de adultos y juveniles emparentados en grado variable, compartiendo el sistema de galerías (Parada 2003, Marquez 2006), y a las propias observaciones de campo, motivaron el análisis de diversos parámetros poblacionales que habilitaran comprender mejor la estructura social.

Los roedores subterráneos, en términos generales, exhiben densidades poblacionales más bajas que las especies de superficie, debido a que en la mayoría de los casos los adultos construyen una cueva que habitan en forma exclusiva, patrón de territorialidad que limita la ocupación simultánea de la misma área (Busch et al. 2000, Lacey 2000). De todas maneras, las comparaciones interespecíficas en diferentes grupos, incluyendo a los *Ctenomys*, revela diferencias en patrones de forrajeo, estructura de las cuevas, actividad en superficie y uso del espacio, variables que se vinculan a su vez, a los niveles de predación (Busch et al. 2000 y ref.). Las adaptativas respuestas ecológicas a los desafíos y

oportunidades generados por el ambiente subterráneo son muy amplias en diferentes especies y varían también entre poblaciones de la misma especie que habitan localidades de diversa calidad de suelo y vegetación (Malizia et al. 1991, Zenuto et al. 1999, Rosi et al. 2002). En relativamente pocas especies se han reportado los patrones de dispersión, con detalles en cuanto al sexo, franja etaria, modalidad y distancias recorridas de los animales que se desplazan de un área a otra, considerándose un elemento determinante de la demografía, dinámica poblacional y comportamiento social. Si bien la mayoría de las especies de tucu-tucus son de vida solitaria, con cuevas individuales habitadas por adultos en forma exclusiva, sin solapamiento entre las áreas de actividad de cada uno (Pearson et al. 1959, Busch et al. 1989, Reig et al. 1990, Lacey et al. 1998), en algunas especies se ha reportado la ocupación compartida del mismo sistema de galerías (Pearson 1959, Pearson y Christie 1985, Lacey et al. 1997). Una de ellas, *C. sociabilis*, ha sido la única en la que se ha realizado un extenso trabajo de caracterización de las interacciones sociales de la población, mediante el seguimiento por radiotelemetría (Lacey et al. 1997, Lacey y Wiczorek 2003). Los patrones intermedios de comportamiento espacial donde las áreas de actividad se solapan parcialmente, mientras los individuos mantienen sitios de uso exclusivo no han sido reportados en ninguna de las especie de roedores subterráneos (Lacey 2000). Posiblemente eso se deba a las restricciones de movimiento impuestas por el uso de túneles o a falta de investigaciones en torno a este aspecto en la mayoría de las especies.

El conocimiento de la distribución espacial de los individuos, los patrones de dispersión y los parámetros emergentes como densidad y tamaño poblacional, proporción sexual y de fenotipos, es imprescindible para estimar la complejidad de las interacciones sociales entre individuos en una población. La influencia de estos elementos en la determinación de los sistemas de apareamiento y por lo tanto en las dinámicas reproductivas entre los individuos, los posiciona en un eje sobre el que se articulan diferentes aspectos vinculados al problema de la fijación y mantenimiento del melanismo en esta especie. Con el objetivo de conocer la estructura poblacional y procesos vinculados, se relevan por primera vez en una especie uruguaya, estas variables mediante captura-marcaje y recaptura de individuos a lo largo de un período prolongado de tiempo, y monitoreo remoto de animales a través de radiotelemetría.

## MÉTODOS

---

El trabajo de campo se inició con el seguimiento a través de captura, marcaje y recaptura de una población dimórfica para el color del pelaje agutí-melánica en la localidad El Tabaré (33° 21,48 S, 58° 18,59 W), Dpto. de Río Negro, en la que se realizaron 10 colectas de tucu-tucus con trampas de captura viva (de cepto Oneida Victor N° 0 amortiguadas y de caja) entre julio 2002 y diciembre 2003 (Tabla I). Se consideró un área de 3,6 há, de sustrato arenoso cubierta de vegetación herbácea y sin árboles, ocupada además en forma intermitente por ganado vacuno y equino (Fig. I-1)



**Figura I-1** Tucu-tucus de Río Negro melánico y agutí de la población dimórfica de la localidad de El Tabaré

Las trampas se colocaron donde la humedad del sustrato removido por la excavación de los animales indicó actividad reciente y fueron revisadas frecuentemente durante el día. Al atardecer, las trampas de cepto eran retiradas y en su lugar se disponían, en aquellas cuevas donde fuera posible, trampas de caja hasta la mañana siguiente. De todos los animales se registró sexo y peso corporal (balanza Avinet 300 g  $\pm$  2 g), mientras que en las hembras también se observó la morfología vaginal externa, así como grado de desarrollo y presencia de leche en las mamas. Se consideraron hembras y machos juveniles aquellos individuos inmaduros reproductivamente, de peso menor a 100 y 120 g respectivamente. Además, otras características como vagina sin perforar y, en el caso de autopsia, útero filiforme sin embriones ni marcas de placentación, se consideraron para asignar a las hembras a este grupo. Las marcas permanentes que permitieron reconocer a

los individuos en sucesivas recapturas consistieron en mutilar una falange de uno de los dedos de las patas posteriores de manera de establecer un código de identificación, que al ser combinado con el color y el sexo del individuo, generó 140 posibilidades de marca individual. El tejido proveniente de las marcas y de las autopsias de los animales muertos durante la captura o el cautiverio se conservó en alcohol 95% en la colección del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias.

Se construyó un mapa con la distribución espacial de las capturas en cada muestreo, a partir del cual se calculó la densidad poblacional, y las distancias de cada individuo al vecino más cercano. No se colectó en ninguno de los muestreos la totalidad de los individuos presentes en el área. Esta metodología permitió estimar el área de actividad de los individuos que fueron capturados al menos en tres oportunidades, por medio del mínimo polígono convexo determinado por los puntos de captura (Smolen et al. 1980, Busch et al. 1989). Además, en los animales con dos recapturas se determinó su rango de desplazamiento dentro del área. El tamaño de la población se estimó mediante el número mínimo de individuos conocidos vivos (MNKA) entre intervalos (Krebs 1966) y el modelo probabilístico de Jolly-Seber (Sutherland 1996).

La información proveniente de este trabajo de 18 meses de duración se comparó con dos conjuntos de datos independientes sobre la misma población dimórfica para la coloración del pelaje. Por un lado, el análisis de catálogo y mapa de distribución de capturas de la localidad mencionada, provenientes de un muestreo intensivo de tres meses entre octubre y diciembre de 1999, y por otro la colecta con extracción de ejemplares en una localidad a 2,5 km de la anterior, El Rincón (33° 20,43 S, 58° 17,45 W), en mayo y julio de 2004. Entre mayo y noviembre del 2005, también en esta localidad, se analizaron los patrones de uso de espacio mediante radiotelemetría. A partir de las diferentes metodologías de trabajo empleadas en las cuatro instancias (Tabla I-I), los datos obtenidos se consideran complementarios y la comparación entre las diversas fuentes de información es relevante para establecer con mayor precisión los atributos espaciales de esta población.

**Tabla I-I** Diferentes abordajes en el análisis de una población dimórfica para el color del pelaje agutí – melánica de *C. rionegrensis* en dos localidades del Dpto. de Río Negro.

Localidad	Año	Período	Frecuencia	Trampas	Metodología
El Tabaré	1999	octubre a diciembre	diarios	cajas	extracción
	2002-2003	julio 02 a diciembre 03	mensuales (10)	cajas y ceptos	marca y recaptura
El Rincón	2004	mayo y julio	mensuales (2)	ceptos	extracción
	2005	mayo a noviembre	mensuales (4)	ceptos	radiotelemetría

La distribución espacial de los animales se comparó con una distribución de Poisson (con una cuadrícula de 25 m de lado). Se calculó además la distancia de cada individuo al vecino más próximo y al más cercano del mismo sexo.

### Radiotelemetría

En la localidad de El Rincón, a partir de mayo de 2005 se realizó el seguimiento de los animales por radiotelemetría, para establecer los patrones de desplazamiento y el uso del espacio de cada uno de los individuos. Los animales fueron capturados con trampas de cebo colocadas en las bocas de las cuevas que denotaran actividad reciente. Previo a ser liberados, los animales se marcaron individualmente siguiendo la metodología aplicada en la localidad de El Tabaré, se registró su peso y fueron estimados su edad (juvenil/adulto) y estado reproductivo. Se les colocó un collar plástico con un radiotransmisor G3-1V (AVM Instrument Company, Colfax California, USA) de aproximadamente 5 g y fueron localizados posteriormente, con un receptor LA 12Q y antena Yagi portátil de tres elementos (AVM Instrument Company, Colfax California, USA) (Fig. I-2).



**Figura I-2** La radiotelemetría se realiza mediante la colocación de un collar con un radiotransmisor a cada animal, y la ubicación de los mismos a través de la recepción de la señal que emiten, mediante una antena.

Los animales fueron liberados en el mismo lugar de su captura y sus ubicaciones registradas en un muestreo de barrido cada 1 h, en una grilla georreferenciada con

cuadrantes de 4 x 4 m, (Fig.I-3) con una precisión de localización estimada de 0,5 m (Lacey et al. 1998).



**Figura I-3.** Área de estudio en la localidad de El Rincón, donde se instaló la grilla de referencia en los muestreos de telemetría.

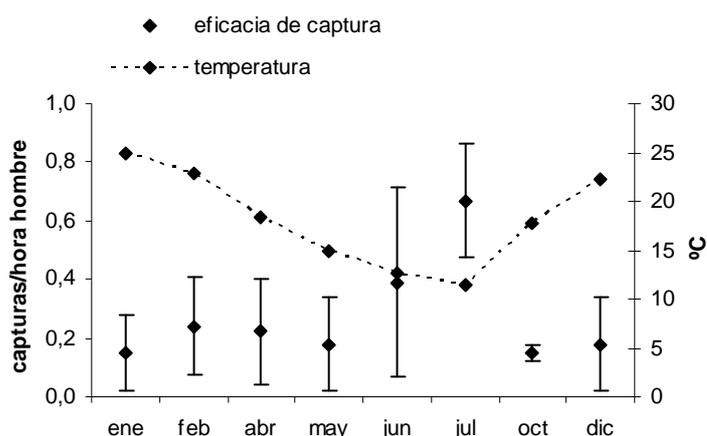
Se dispuso de 10 transmisores con posibilidades de “reciclar” en nuevos collares, lo que permitió utilizarlos varias veces y en diferentes individuos. En mayo se capturaron nueve animales adultos (siete hembras y dos machos) y a todos se les colocó radiotransmisor al final del primer día de la captura. Durante dos días y en las horas de luz (7-18 hs) se obtuvieron puntos de localización para cada uno de los nueve individuos a intervalos de 1 h. Los collares con los radiotransmisores permanecieron en los animales hasta la siguiente salida. En agosto, debido a la pérdida de animales y sus respectivos collares por predación, se procedió a la captura de todos los animales en el área de la grilla, para reubicar los collares en aquellos animales que tuvieran sitios de captura próximos. Se colectaron cinco machos y 16 hembras todos adultos, y se colocaron uno y seis transmisores respectivamente. Como dos hembras mantuvieron el collar, al finalizar la salida, ocho hembras y un macho poseían transmisor. No se realizó registro de localización, luego de la liberación de estos animales.

En setiembre, cinco animales permanecieron con collar, mientras que el de un macho apareció en la cueva de una hembra, y otro no fue localizado. Se obtuvieron 13 muestreos cada 1 h en dos días, debido a que las condiciones climáticas impidieron la toma de datos durante la totalidad del período. En noviembre dos hembras mantuvieron los collares desde la salida previa y se reubicaron cuatro más de manera que cinco hembras y un macho fueron monitoreados a intervalos de 1 h, durante 72 h continuas (Lacey et al. 1998, Urrejola et al. 2005)

Los puntos de captura y de ubicación de los animales por radioteleetría, se registraron en función de los ejes de la grilla como coordenadas cartesianas y fueron proyectados en una gráfica de dos ejes. El área de actividad de los individuos se estimó a través del mínimo polígono convexo, determinado por los sitios de localización de cada animal.

## RESULTADOS

Durante los 18 meses de trabajo en captura-marcaje y recaptura en El Tabaré, se realizaron 10 muestreos de 3 días, excepto 5 días en julio de 2002, de 7,9 h ( $\pm 2,5$ ) y 4,2 personas ( $\pm 1,4$ ) promedio cada uno, con un valor total de 252 h de trampeo. Se contabilizaron 329 capturas ( $10,3 \pm 8,9$  capturas/día), con una eficiencia máxima en julio ( $0,7$  animal /hora/ hombre), pero muy variable a lo largo del año, exhibiendo una correlación negativa respecto a la temperatura ambiente ( $r = -0,7$ ,  $p \leq 0,05$ , Fig. I-4)



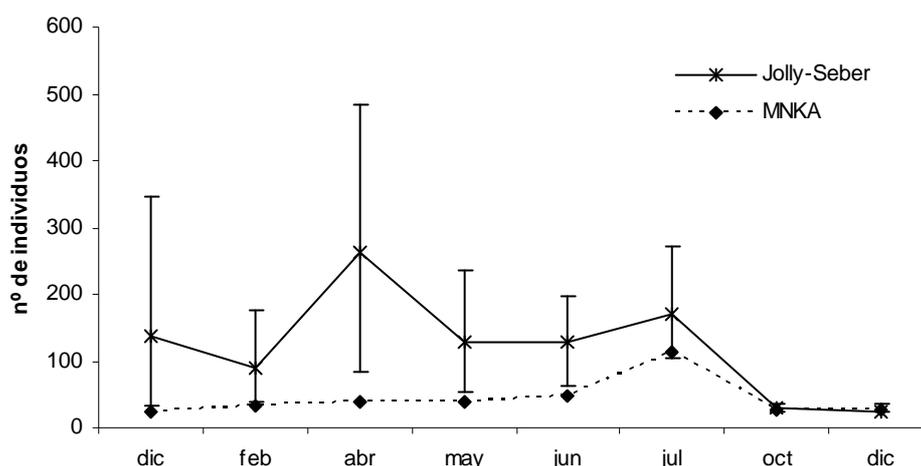
**Figura I-4.** La eficiencia de captura calculada como el número de capturas/ hora/ hombre a lo largo del año y medio de muestreo en El Tabaré está correlacionada negativamente con la temperatura de cada mes ( $r = -0,7$ ,  $p \leq 0,05$ ). Los datos de temperatura corresponden a la estación meteorológica más cercana a la localidad de muestreo (Mercedes, Dpto Soriano,  $33,25^\circ$  S,  $58,07^\circ$  W, Dirección Nacional de Meteorología)

En este sitio se colectaron 233 individuos (143 hembras y 90 machos), con 26 hembras y 23 machos capturados en dos o más oportunidades (21%). La tasa recaptura no aparece significativamente diferente entre los sexos ( $X^2 = 1,16$   $p > 0,05$ ). Se extrajeron 94 animales de la población, principalmente en julio 2002 y 2003 (77,6 %), que fueron trasladados para experiencias de comportamiento en cautiverio. Esta cifra de animales removidos impide

afirmar con confianza que solamente este 21% de recapturas represente a la población residente. La recaptura exhibió un rango muy amplio de valores en los distintos muestreos, desde 0 en enero a 70% en octubre ( $29,1 \pm 20,5 \%$ )

### Densidad y estimación de tamaño poblacional

Las estimaciones de tamaño poblacional a través del mínimo número conocido vivo (MNKA) y del método de Jolly-Seber difieren en sus predicciones. La ausencia o bajos valores de recaptura comprometen la aplicación del modelo, debido a que generan estimaciones con amplios intervalos de confianza evidenciado claramente en el mes de abril (Fig. I-5). En este sentido eliminamos del análisis el muestreo de enero por ausencia de captura de animales marcados. En octubre la estimación de abundancia disminuye notablemente, y se solapa con los valores de número mínimo de animales conocidos vivos. De todas maneras las variaciones a lo largo del año con respecto al número de individuos colectados y el esfuerzo de captura, no son consecuencia de oscilaciones en el tamaño poblacional sino que responden al nivel de actividad de los individuos en las distintas estaciones, durante las horas en que se efectuaron los trampeos. Consideramos que el tamaño poblacional se mantuvo relativamente constante a lo largo del año.

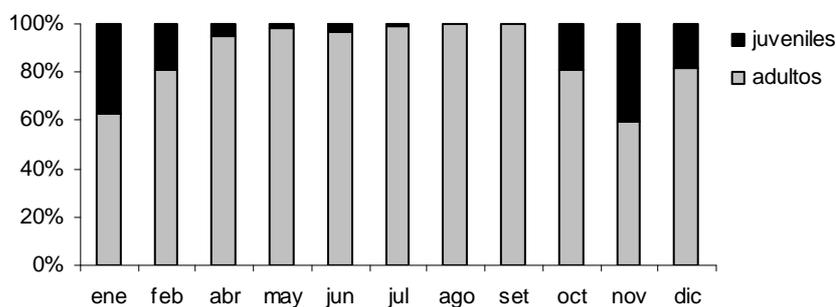


**Figura I-5.** Estimaciones del número de tucú-tucús en las 3,6 há del área de captura en la localidad de El Tabaré entre diciembre del 2002 y diciembre del 2003, a través de los modelos de estimación poblacional de Jolly-Seber y mínimo número conocido de animales vivos (MNKA). Se indican con las barras verticales con intervalos de 95% de confianza superior e inferior para la primera estimación.

En el cálculo del mínimo valor de densidad poblacional, se eligió el muestreo de julio 2003 por varias razones: a) a pesar de que se colectó en esta instancia el mayor número de animales, no fue capturada la totalidad de la población, b) al finalizar, fueron removidos 43 animales y c) la ausencia de juveniles garantiza que se considera a la población activa reproductivamente. La densidad mínima bajo estas condiciones, para el área de muestreo es de 24 ind/há pero se duplica en función del número de individuos que provee la estimación de Jolly-Seber para el mismo período. Sin embargo la distribución de los animales no es homogénea y se registran subáreas con 52 y 75 ind/há (80x60 m y 125x50 m respectivamente), subestimando la densidad real ya que solamente se consideran los animales capturados. En la misma área, de octubre a diciembre de 1999, los adultos generan un valor de 40 ind/há. En El Rincón en agosto de 2005 se procedió a la captura de la totalidad de los animales dentro de una grilla de 60x60 m, calculándose una densidad de 64 ind/há.

### Estructura etaria

Con respecto a la estructura etaria de esta población, considerando los datos totales de ambas localidades, se observa desde octubre hasta febrero entre 18,9 y 40,3 % de individuos juveniles. Entre abril y junio esta proporción disminuye notablemente, mientras que a partir de julio la población se compone exclusivamente de individuos adultos (Fig. I-6). En este sentido podemos establecer que durante la estación de apareamientos inmediatamente posterior a su nacimiento, los juveniles se incorporan a la población reproductivamente activa (ver Capítulo II).



**Figura I-6.** Proporción de adultos y juveniles en la población dimórfica aguti-melánica considerando los datos totales de captura de las localidades El Tabaré y El Rincón (1999, 2002-03 y 2004-05)

### Proporción sexual

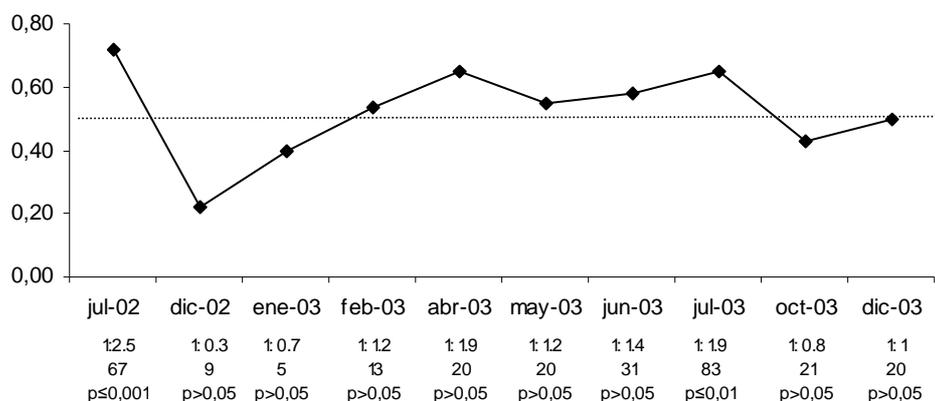
La proporción sexual de los adultos en esta población dimórfica para el color del pelaje, está significativamente desviada de la relación esperada 1:1, a favor de las hembras (Prueba de G,  $p \leq 0,05$ ), tanto en El Tabaré en los dos períodos de estudio, como en El Rincón entre mayo 2004 y agosto 2005 (Tabla I-II).

**Tabla I-II.** Proporción sexual entre individuos adultos en dos localidades de *C. rionegrensis*. Los valores de p corresponden al resultado de la Prueba de G (Zar 1997)

Localidad	Período	n	Proporción sexual machos:hembras	Prueba de G p≤
El Tabaré	octubre-diciembre 99	106	1: 1,7	0,05
	julio 02-diciembre 03	233	1:1,6	0,001
El Rincón	mayo 04-agosto 05	116	1: 3,0	0,001

Se excluyeron del análisis los datos provenientes de setiembre y noviembre de 2005 en esta última localidad ya que el esfuerzo de trampeo estuvo mediado por la localización de los animales por radiotelemetría, factor que compromete la aleatoriedad del muestreo.

Sin embargo, este sesgo hacia las hembras registrado en los datos globales, no es constante a lo largo del año (Fig. I-7). Los valores se invierten entre octubre y enero, cuando las capturas arrojan mayor o igual proporción de machos, al coincidir con el período en que las hembras paren y amamantan a las crías.



**Figura I-7.** Proporción de hembras adultas de *C. rionegrensis* capturadas en la localidad de El Tabaré. La proporción sexual macho:hembra, el tamaño de la muestra y los valores de probabilidad de que la muestra se aparte del valor esperado 1:1 (Prueba de G, Zar 1997), están indicados en la parte inferior de la figura.

En cambio los individuos juveniles no se apartan de la relación sexual 1:1, con capturas de 19:19, 8:10 (El Tabaré 1999 y 2002-2003 respectivamente) y 6:5 (El Rincón 2005)

### Polimorfismo cromático

Las variantes cromáticas agutí y melánica se presentan en esta población en diferentes proporciones dependiendo de la localidad. Los individuos melánicos representan menos de la mitad de la población excepto en El Rincón donde, en el área en que fue instalada la grilla de telemetría, superan el 60% (Tabla I-III).

**Tabla I-III.** Proporción de individuos melánicos en la población dimórfica para el color del pelaje según sexo y edad relativa en las diferentes localidades (\* se consideran datos de catálogo, \*\* área utilizada para estudios de telemetría)

Localidad	Proporción de melánicos				total	n
	hembras		machos			
	adultas	juveniles	adultos	juveniles		
El Tabaré 1999 *	0,33	0,42	0,39	0,32	0,36	146
El Tabaré 02-03	0,31	0,13	0,24	0,5	0,28	234
El Rincón 04	0,45	-	0,45	-	0,45	78
El Rincón 05 **	0,73	0,5	0,33	0,4	0,62	47

### Distribución espacial

A partir del mapa de capturas de julio de 2002 y 2003, los animales en El Tabaré se distribuyen en el área de estudio de forma contagiosa según el análisis de distribución de Poisson ( $p \leq 0,01$ ). Este patrón de espaciamiento se observa en los adultos de esta localidad en el muestreo de octubre a diciembre de 1999 y en El Rincón en agosto de 2005. Las relaciones espaciales entre los individuos fueron analizadas a través del cálculo de la distancia media al vecino más próximo, considerando exclusivamente a los adultos: hembra-hembra, macho-macho e individuo-individuo (Tabla I-IV) para todas las localidades en diferentes períodos muestrales. El espaciamiento entre las categorías aparece estadísticamente diferente en el muestreo de El Tabaré en 1999, donde los machos se encuentran más distantes entre sí que el resto de los individuos (Prueba de Kruskal-Wallis,  $H=11,09$ ,  $p \leq 0,004$ ), relación que no se mantiene en las otras instancias (Prueba de Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$ )

**Tabla I-IV** - Distancia media ( $x \pm de$ ) entre adultos: de cada hembra a la hembra más próxima, de cada macho al macho más próximo y de todos los individuos a su vecino más próximo, en las dos localidades en diferentes períodos de muestreo (El Tabaré 2003 considera el muestreo del mes de julio)

Localidad-Período	hembra-hembra		macho-macho		individuo-individuo	
	$x \pm de$ (m)	n	$x \pm de$ (m)	n	$x \pm de$ (m)	n
El Tabaré 1999	13,3±9,4	72	15,7±11,5	38	9,67±6,7	110
El Tabaré 2003	24,0±18,2	46	36,3±30,2	26	20,7±13,9	72
El Rincón 2005	7,9±2,1	16	19,8±10,9	5	7,0±2,8	21

### Áreas de actividad y dispersión

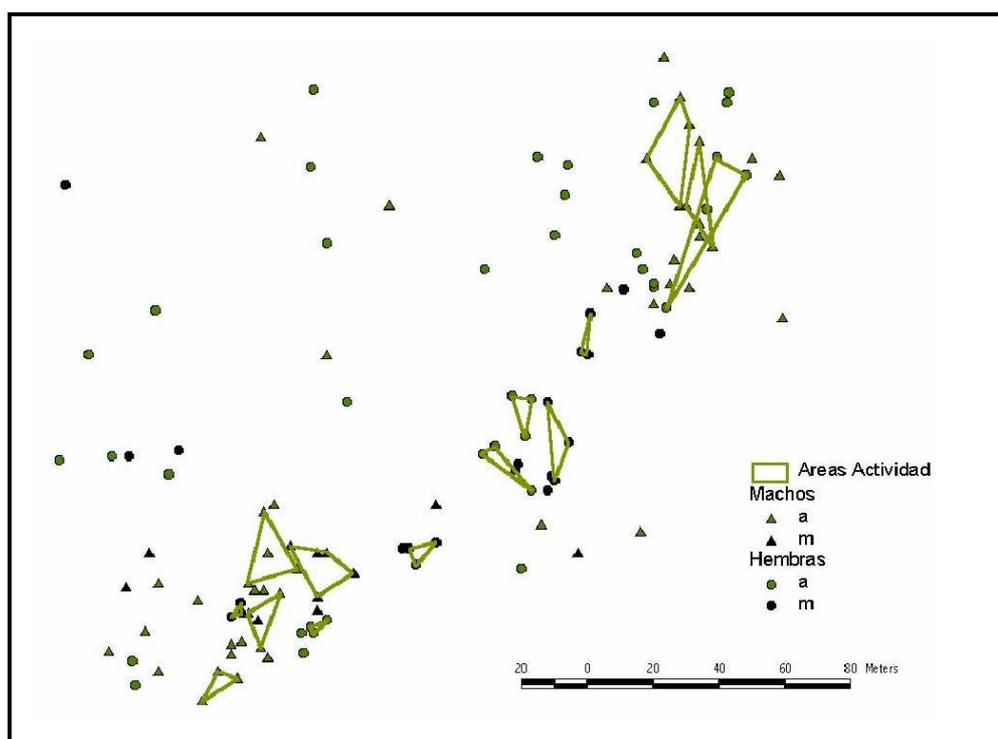
#### a. Estimación mediante captura-marcado y recaptura

El abordaje empleado, permitió estimar el área de actividad de los individuos capturados al menos en tres oportunidades, como la superficie comprendida en el mínimo polígono convexo determinado por los puntos de captura (Fig. I-8), y el desplazamiento entre dos recapturas durante el período de estudio. En base a este criterio, las hembras exhibieron un área de actividad media de  $51,5 \pm 76,6$  m ( $n=8$ ) y los machos  $114,2 \pm 63,3$  m ( $n=6$ ), mientras que la diferencia entre ambos aparece con niveles marginales de significación estadística (Prueba U Mann-Whitney,  $z=1,94$ ,  $p>0,052$ , Tabla I-IV). Se registra solapamiento entre las áreas de actividad de algunos individuos (Fig. I-8)

Las mayores distancias registradas entre capturas corresponden a dos hembras adultas, con valores alrededor de 200 m. Otra hembra, juvenil en la primera captura, a los 11 meses y a 163,5 m de distancia, estaba preñada. Aunque los machos en promedio recorrieron menores distancias, las diferencias entre ambos sexos no son significativas (Tabla I-V). Tampoco se observa correlación entre la magnitud del desplazamiento y el tiempo transcurrido entre captura y recaptura (correlación de rangos de Spearman  $R=0,227$ ,  $p>0,05$ )

**Tabla I-V** Área de actividad estimada por el mínimo polígono convexo determinado por al menos 3 recapturas y distancia de desplazamiento entre dos capturas sucesivas para *C. rionegrensis* de la localidad El Tabaré entre julio 2002 y diciembre 2003

	Hembras			Machos			Mann-Whitney	
	x±de	rango min-max	n	x±de	rango min-max	n	Z	p
Área de actividad (m <sup>2</sup> )	51,5 ± 76,6	6 - 235,5	8	114 ± 63,3	32 - 208	6	1,936	0,052
Distancia (m)	58,8 ± 73,7	4 - 209	17	34,7 ± 42,1	5 - 164,5	16	0,036	>0,05



**Figura I-8** Área de actividad de individuos capturados al menos en tres oportunidades en La Tabaré, estimada a través del mínimo polígono convexo determinado por los puntos de trampeo ( a: agutí, m: melánico)

Se registró la presencia de macho y hembra e inclusive de dos machos en la misma cueva. En varias oportunidades, ésta fue tapada luego de la captura de su ocupante, indicador de que estaba habitada por más de un individuo o al menos la invasión de la galería desalojada ocurrió muy rápidamente, en algunos casos antes de transcurrida 1 h. Los datos de catálogo de octubre a diciembre de 1999, meses en los que se concentra la mayoría de los nacimientos, registran 17 núcleos de captura múltiple en la misma boca de

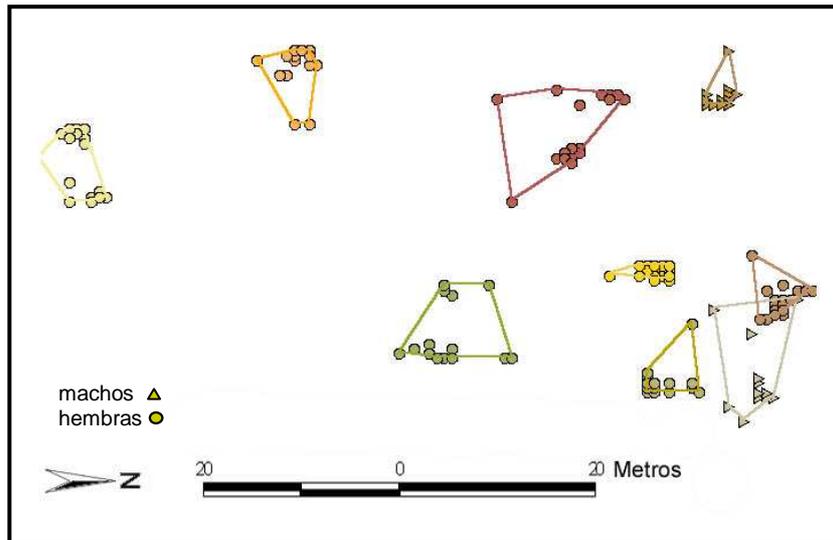
una cueva, constituídos en su amplia mayoría por una hembra e individuos juveniles (n=11), aunque también se colectaron seis grupos de crías con un macho, con más de una hembra o con hembra y macho, adultos en todos los casos. La ocurrencia de estos núcleos sorprende en el sentido de que no se esperaba encontrarlos en una población de individuos solitarios, con territorios discretos y no superpuestos, aún en época reproductiva.

#### b. Evaluación mediante monitoreo remoto por radiotelemetría.

Durante el 2005 se procedió al monitoreo de una muestra de la población de El Rincón a través de radiotelemetría, con el fin de estimar las áreas de actividad de los individuos y evaluar la existencia de solapamiento entre ellas. El primero realizado en mayo, de 22 puntos por individuo (siete hembras y dos machos) permitió estimar sus áreas de actividad, en un mínimo de 4 m<sup>2</sup> y un máximo de 56 m<sup>2</sup>, valores que corresponden a hembras. El promedio registrado para los nueve ejemplares fue  $24 \pm 18$  m<sup>2</sup> (Fig. I-9). El solapamiento de las áreas de actividad de un macho y una hembra, probablemente es afectado por el inicio de la estación reproductiva. En el siguiente muestreo de agosto, tres hembras con collar (dos melánicas y una agutí) fueron predadas por aves, y los collares localizados entre la vegetación circundante<sup>1</sup>. En esta oportunidad se procedió a la remoción de todos los individuos contenidos en la grilla, con el fin de reubicar los collares en animales con capturas próximas, excepto dos hembras agutí que permanecieron con los radiotransmisores instalados. Se registró la disposición en el espacio de todos los individuos capturados.

---

<sup>1</sup> Uno de los collares fue encontrado en la copa de un carbol a 120 m de la zona de trabajo



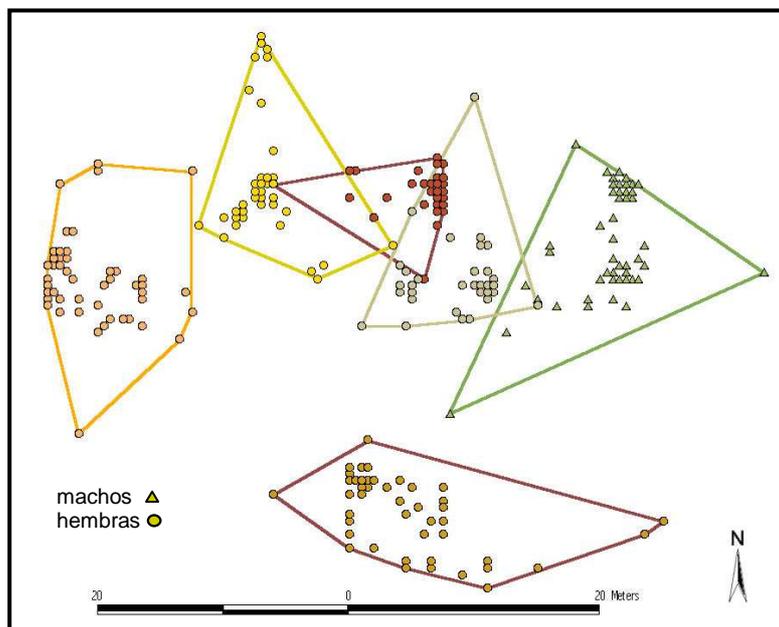
**Figura I-9.** Localización de las capturas y áreas de actividad determinadas por el mínimo polígono convexo mediante radio-posiciones en la localidad de El Rincón en mayo 2005.

En el muestreo siguiente, 30 días después, no se localizó la señal correspondiente a una hembra agutí y tampoco se observaron indicios de actividad alrededor del punto donde fue liberada, mientras que el collar de un macho melánico se encontró suelto en la cueva de una hembra a 14 m de su ubicación original. Además se recapturaron otras dos hembras y se les extrajo el collar con el radiotransmisor por fallas en la emisión de la señal. En noviembre, de los cinco animales con transmisores, solamente dos permanecieron en la población, mientras tres hembras melánicas no fueron localizadas. Se recapturaron individuos, con los que se realizó un monitoreo de actividad durante 72 h consecutivas (cinco hembras y un macho)

A modo de resumen de 13 individuos melánicos (11 hembras y dos machos) y seis agutí (cuatro hembras y dos machos) a los que se les colocó collar con trasmisor en alguna oportunidad, solamente de una hembra agutí y dos hembras melánicas se obtuvieron registros desde mayo y agosto respectivamente, hasta el término del muestreo en noviembre. Fueron efectivamente predadas tres hembras (dos melánicas y una agutí), mientras que otros cuatro animales melánicos (tres hembras y un macho) desaparecieron del área sin que sus transmisores pudieran ser localizados. Aunque indirectamente, estos registros aportan datos acerca de la predación en esta población, ya que estos individuos eran adultos. Si suponemos que los animales que no se localizaron en el área de trabajo ni en los alrededores, también fueron predados (y el collar averiado o trasladado a tal distancia que impidiera la recepción de la señal), resulta que entre los ejemplares

melánicos con collar, el 46% sufrió predación, mientras que entre los agutí este valor es de 16%.

Las áreas de actividad registraron un promedio de 145,27 m<sup>2</sup> ( $\pm$  49,52 m<sup>2</sup>), correspondiendo al macho la mayor superficie (199,12 m<sup>2</sup>). Los mínimos polígonos convexos que determinan las áreas correspondientes a todos los individuos, se solapan entre ellas (Fig.I-10), sin que se observe uso compartido del nido entre los animales monitoreados. Sin embargo, una hembra juvenil fue capturada en el mismo sitio donde el macho fue localizado con alta frecuencia, probablemente un nido.



**Figura I-10.** Áreas de actividad estimadas mediante el mínimo polígono convexo determinado por los puntos de radiocalización en un muestreo de 72 h consecutivas en la localidad de El Rincón en noviembre 2005.

## DISCUSIÓN

---

La mayoría de las especies de *Ctenomys* se caracterizan por establecer colonias semiaisladas, que ocupan determinadas áreas favorables, separadas de otras por distancias variables que van desde cientos de metros a varios kilómetros. La población dimórfica en el color del pelaje analizada podría considerarse conformada por dos

colonias, correspondientes a El Tabaré y El Rincón, a 2,5 km de distancia, separadas por una zona inundable que genera discontinuidad en la distribución.

La densidad poblacional aparece como extremadamente variable tanto entre las especies del género como dentro de las mismas, seguramente como reflejo de las variaciones en la estructura del suelo y en la vegetación del área que habitan. Los valores de densidad poblacional estimados en este estudio entre 48 y 75 ind/há, son elevados frente a 10 ind/há en *C. mendocinus* (Rosi et al. 1992), 16 ind/há en *C. australis* (Zenuto y Busch 1998) y 42 ind/há en *C. peruanus* (Pearson 1959). Aunque en *C. talarum* se ha reportado una población con 208 ind/há (Pearson 1968), valores de 13 y 65 ind/há han sido calculados por captura (Busch et al. 1989) y modelos estocásticos (Malizia 1998). Los bajos valores de densidad poblacional de los roedores subterráneos en general, podrían deberse a que los individuos mantienen y defienden su sistema de galería, que es compartido sólo por la madre y sus crías, y durante el apareamiento. De todas maneras Busch et al. (2000) estiman que los efectos del sistema social sobre la densidad poblacional son difíciles de predecir.

Aunque se registran oscilaciones en el tamaño poblacional estimado, podemos afirmar que el número de animales se mantiene relativamente constante a lo largo del año. En este sentido, las variaciones en el número de individuos capturados y en los cálculos de abundancia derivados, son producto de diferencias en la probabilidad de captura impuestas básicamente por la estacionalidad reproductiva. El bajo número de hembras en los muestreos de octubre y diciembre (y consecuentemente una proporción sexual desviada hacia los machos) está asociado a las actividades reproductivas de parto y lactancia que se desarrollan principalmente en este período. En cambio, la mayor movilidad de los animales en busca de pareja sería el factor que determinase la elevada captura registrada en julio. El suelo arenoso en que habitan no impone limitaciones estacionales vinculadas a la estructura y dureza del sustrato que puedan influenciar los patrones de excavación, como ocurre en *Thomomys bottae* (Romañach et al. 2005), donde las precipitaciones promueven un incremento en la tasa de construcción de nuevas galerías. Sin embargo, los cambios en la temperatura del ambiente a lo largo del año, pueden provocar modificaciones del patrón de actividad diario, observándose que en invierno entre las 10 y las 16 h se produjo el 80% de las capturas, mientras que en enero, con 38°C, ningún animal fue colectado en esas horas. En noviembre, durante el monitoreo continuo de 72 h, los animales permanecieron activos, inclusive vocalizando, durante la noche. En el futuro, es imprescindible considerar el ritmo diario de actividad y su

vinculación con la temperatura y estacionalidad reproductiva, para maximizar tanto la eficacia de trampeo como la estimación del área de actividad. Desde el comienzo de la primavera, cuando se producen los primeros nacimientos, la población se incrementa en número, pero las capturas en esta franja etaria se registran a partir de mitad de octubre, período en que los juveniles comienzan a forrajear en forma independiente. Hasta febrero, las hembras pueden parir una segunda camada y en la siguiente estación reproductiva estos juveniles se incorporan a la población sexualmente activa como se describe en el capítulo siguiente. La totalidad de las capturas de este período corresponden a individuos adultos.

La proporción sexual aparece sesgada hacia las hembras en ambas colonias, aún cuando las actividades de cría de las hembras imponen una disminución en sus probabilidades de captura durante la primavera. Entre los ctenómidos, se registra tanto esta condición como proporciones sexuales balanceadas (Busch et al. 2000 y ref.). En algunas especies las variaciones intraespecíficas en este sentido parecen ser dependientes de la densidad, con proporciones más inclinadas a favor de las hembras a medida que la densidad poblacional aumenta (Busch et al. 2000). Si bien en El Rincón se observa la tasa sexual más fuertemente desviada hacia las hembras, con solamente 6 machos adultos capturados en 7 meses, en agosto, más del 80% de las hembras estaban preñadas. En general, las proporciones sexuales a favor de las hembras conjuntamente con una receptividad asincrónica entre las mismas, aumenta el potencial poligámico del medio con la consecuente posibilidad de monopolizar múltiples parejas, condición imprescindible para el establecimiento de sistemas de apareamiento poligínicos (Emlen y Oring 1977). Esta estrategia reproductiva, ampliamente representada entre los mamíferos y en los roedores en particular, ha sido confirmada en especies del género *Ctenomys*, mediante análisis de paternidad (Zenuto et al. 1999) y observaciones comportamentales en cautiverio (Zenuto et al. 2002). Además, el patrón de disposición espacial de un macho rodeado por hembras que no se superponen, en *C. talarum* (Busch et al. 1989, Malizia 1998) indica el acceso exclusivo del macho a las hembras circundantes. En *C. rionegrensis*, aun reportando que los animales se distribuyen de manera no uniforme, la agregación espacial no se percibe estructurada en función de núcleos reproductivos. Por otro lado, la intensificación de la selección intrasexual generada por la competencia por territorio y/o apareamientos, favorece el dimorfismo en tamaño corporal entre machos y hembras (Andersson y Iwasa 1996), característica observada en esta especie. A pesar de que la poliginia en esta población estaría sugerida por múltiples evidencias, el grado de monopolización de

hembras y los mecanismos implicados tanto en la localización como en la elección de la pareja, son aspectos importantes que deben delimitarse más claramente.

Debido a que la proporción sexual en los juveniles está balanceada, la mortalidad diferencial entre los adultos podría generar la discordancia hallada entre ambos grupos etarios. En *C. talarum*, el mismo fenómeno se asigna a las interacciones agonísticas más frecuentes entre los machos a medida que la densidad poblacional aumenta (Malizia y Busch 1991), vinculado principalmente al establecimiento de territorios. Como alternativa, un patrón de dispersión diferencial, donde los machos juveniles migren por la superficie en mayor proporción que las hembras, los expone a mayor predación. La competencia local por el apareamiento y la evitación de la endogamia se postulan como los factores que afectan la dispersión natal (Clutton Brock 1989). En este escenario, los índices más altos de dispersión en los machos, generan tasas de recaptura menores que en las hembras, diferencias que no se registran en esta población durante el período de estudio, en oposición a lo reportado para *C. talarum* (Busch et al. 1989). Una primera aproximación a los patrones de subdivisión poblacional en esta localidad, a través del análisis de microsatélites de ADN, revela que el parentesco es independiente de la distribución espacial a esta escala (Wlasiuk et al. 2001, Lessa et al. 2005). Profundizar en esta línea de trabajo permitirá establecer con mayor precisión la estructura genética de la población y sus implicancias en las relaciones de parentesco y en los patrones de dispersión. La determinación del grado de relacionamiento entre machos y hembras, así como la frecuencia y distancia de desplazamiento, son claves imprescindibles para establecer los mecanismos de dispersión y la ocurrencia de filopatría. Aunque los valores estimados de flujo génico entre diferentes poblaciones de *C. rionegrensis* son muy bajos (Wlasiuk et al. 2003, Lessa et al. 2005), se desconoce la intensidad y el efecto de la migración de individuos a una escala espacial más reducida. En esta investigación, los adultos exhibieron un amplio rango de desplazamiento dentro de la población, superior en promedio al reportado en otras especies de tucu-tucus (Busch et al. 1989). Los roedores subterráneos ciegos, *Spalax ehrenberghi* dispersan por excavación de túneles laterales adyacentes a la cueva materna, con las consecuentes ventajas vinculadas a la evasión de predadores. A pesar de que no se ha establecido la modalidad de dispersión en esta población, la captura múltiple y/o rápida ocupación de una cueva desalojada y el solapamiento de áreas de actividad de diferentes individuos sugieren que, más que cuevas discretas, podría estar funcionando una red subterránea con potencial apertura y cierre de túneles. En más de 600 h de permanencia en el campo durante esta investigación, no se observaron tucu-tucus que se alejaran de la boca de su cueva más de 0,5 m, al menos

durante el día, mientras la excavación parcial de una cueva, demostró la gran extensión y ramificación de la misma. Indirectamente este conjunto de observaciones inducen a establecer una probable, aunque no excluyente modalidad de dispersión y desplazamientos en base a “corredores” bajo tierra.

Una perspectiva interesante a explorar, la genera el patrón de distribución de los animales “residentes” o recapturados en más de tres oportunidades, en una franja hacia el borde del área de muestreo, a la vez que los mayores desplazamientos son realizados por hembras hacia esa zona. La elección del lugar donde establecerse, además de estar influenciada por la disponibilidad y calidad de los parches de hábitat aptos, puede responder a la densidad de individuos en el área. El “efecto buffer” (Brown 1969) establece que la colonización de sitios subóptimos cuando la población se encuentra en expansión, se debe a que la presencia de coespecíficos interfiere en el establecimiento de un nuevo individuo en determinada área mediante la exclusión territorial. Sin embargo, la interacción individual puede ser positiva generando una distribución agregada mediante el “efecto Allee” (Courchamp et al. 1999, Stephens y Sutherland 1999). La regulación del tamaño poblacional y de la estructuración espacial puede estar sometida a ambos efectos dependiendo de los costos y los beneficios de la interacción social (Soutullo et al. 2006).

### Polimorfismo cromático y predación

Desde el momento en que se describe el melanismo en esta especie (Langguth y Abella, 1970), la ocurrencia de poblaciones “puras” y polimórficas en diferentes combinaciones en relación a la coloración del pelaje, ha generado diversas hipótesis que intentan explicar la fijación de este carácter (Altuna et al. 1985, D Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2003). Aún sin comprender directamente las bases genéticas del polimorfismo, la falta de correlación entre el color del sustrato en que habitan y el del pelaje, determina la posibilidad de que estén sometidos a una mayor presión de predación, principalmente por aves rapaces, que los individuos agutí. En este sentido se ha demostrado una tendencia mayor a la predación en contra de juveniles melánicos por parte de lechuzas de campo, *Athene cunicularia*, a partir del análisis de bolos de regurgitación (Vasquez 2003). En la misma línea, aunque indirectamente, nuestros resultados revelan tasas de predación más altas en adultos melánicos que agutí, en función de la pérdida de collares de radiotelemetría. Aunque las cuevas proveen protección, estos roedores, constituyen parte importante de la dieta de varias especies de lechuza (Vassallo et al. 1994, Altuna y González 2006). En la localidad

de El Rincón se registró la presencia de *Milvago chimango* en las cercanías del área de captura y sobrevolando la población, por lo que lo consideramos un probable predador. No se observaron en esta localidad durante el período de estudio, nidos ni ejemplares de *Athene cunicularia*, a diferencia de lo que ocurre en El Tabaré.

La población de Los Arrayanes, reportada en la década del '80 como dimórfica para este carácter (Altuna et al. 1985), está integrada en la actualidad, exclusivamente por individuos agutí. En El Tabaré se observa una disminución en la proporción de individuos melánicos entre los muestreo de 2003 y 1999, principalmente en los machos. Sin embargo en El Rincón, el fenotipo melánico es el más frecuente. El mantenimiento de estos “fenotipos alternativos” en las poblaciones, podría implicar por tanto un equilibrio entre la selección sexual a través de sesgos en el éxito de apareamiento, y la selección natural en cuanto al éxito diferencial en la supervivencia, principalmente frente a la predación. Una aproximación experimental en base a modelos, que permita evaluar la incidencia de esta fuerza selectiva, aportaría una evidencia directa a esta hipótesis.

### Estructura espacial y organización social

La relación espacial entre los individuos de una población provee claves que facilitan entender la estructura social. En este sentido las especies subterráneas pueden clasificarse en función del grado de solapamiento de las áreas de actividad de los individuos adultos (Lacey 2000). Las distribuciones espaciales no superpuestas, se registran en la mayoría de las especies de roedores subterráneos, confirmando que la vida solitaria está ampliamente extendida en este grupo (Nevo 1979, Reig et al. 1990). Sin embargo, la existencia de adultos compartiendo un sistema de cuevas, ha sido reportado principalmente entre los batiérgidos, en particular *H. glaber* (Jarvis 1981, Fraude 1991) y varias especies del género *Cryptomys* que exhiben una organización eusocial (Bennett y Jarvis 1989, Bennett 1989). También en los octodóntidos se ha detectado la presencia múltiple de adultos en la misma área, como en *Spalacopus cyanus* (Reig 1970), *Ctenomys sociabilis* (Pearson y Chistie 1985, Lacey et al. 1997) y *C. peruanus* (Pearson 1959), compartiendo un mismo nido, pero sin división de tareas dentro de la colonia.

La estimación indirecta por captura-recaptura y directa a través de la localización por radiotelemetría, indica para esta población áreas de actividad mayores que las reportadas en otras especies del género (Malizia 1998, Busch et al. 1989). El monitoreo remoto

durante las horas de luz registra superficies menores que las generadas en un muestreo continuo que abarca la noche. Aún considerando que las diferencias pueden estar determinadas por la estacionalidad reproductiva y frente al desconocimiento de los patrones temporales de actividad, el monitoreo continuo durante más de 24 h garantiza una mejor aproximación a las relaciones espaciales entre los individuos. Nuestros datos aparecen en este contexto como el primer reporte dentro de los roedores subterráneos, de formas intermedias de comportamiento espacial en donde las áreas de actividad solapan entre algunos individuos, mientras se mantiene el nido como sitio de uso exclusivo. Esta realidad visualizada durante el trabajo de campo a partir de la presencia de más de un adulto en la misma cueva o de la inmediata obstrucción de la boca de captura luego de remover uno de sus ocupantes, se confirma a través del estudio de radiotelemetría, en que se registra claramente el solapamiento de las áreas de actividad entre individuos adultos. Si bien la superposición de las áreas de macho y hembra podría interpretarse en función de la actividad reproductiva, el mismo fenómeno entre las hembras no admite esta explicación. Lacey (2000) interpreta la falta de patrones intermedios de distribución espacial en los roedores subterráneos, a las restricciones físicas que impone el movimiento dentro de un sistema de corredores subterráneos, con altos costos de construcción. Para que las áreas se solapen, los individuos deben compartir al menos en parte el mismo túnel, requerimiento que puede alterar los costos y beneficios del uso comunitario del espacio. En este marco, nuestras observaciones apoyan la idea de que frente a la posibilidad de interacciones frecuentes entre individuos, aun con una alta inversión en la construcción de la galería, puede verse favorecido compartir el sistema, en función de evitar los encuentros agresivos que implica la ocupación exclusiva. Esta explicación no establece causalidad entre estos elementos, ya que aun cuando consideramos que la densidad es alta en algunas de las zonas analizadas, en otras especies de *Ctenomys* con densidades aun mayores, los animales mantienen el espaciamiento individual (Malizia 1998).

Múltiples hipótesis se han planteado para explicar el origen y el mantenimiento de la vida en grupo en los roedores (Ebensperger 2001 y ref.). Una de las condiciones críticas para ello es la evolución de la tolerancia social entre individuos, por lo que se espera menores niveles de agresión en especies sociales frente a especies de vida solitaria (Ebensperger 2001, 2002). En este sentido dos líneas de evidencia directa complementan estos resultados. Por un lado las experiencias de comportamiento llevadas a cabo durante esta investigación han revelado altos niveles de tolerancia a la presencia de coespecíficos exhibidos por machos y hembras en encuentros inter e intrasexuales, inclusive durante la

estación reproductiva (Altesor 2006, obs. pers.). Además, análisis de parentesco a través de microsatélites de ADN en los núcleos de captura múltiple de la localidad de El Tabaré, revelan que individuos adultos no emparentados comparten en algunos casos, el sistema con las crías (Parada 2003, Lessa et al. 2005, Márquez 2006).

Aunque no hay datos posteriores, Reig et al. (1990) reportan la existencia de una población de *C. rionegrensis* de vida colonial con cuevas colectivas, en la provincia de Entre Ríos, Argentina. Un importante conjunto de resultados se constituyen en aportes novedosos sobre los que profundizar la comprensión de la organización social en esta especie: la alta densidad de población particularmente en algunas áreas de distribución agregada, la captura de juveniles y adultos no emparentados así como el amplio rango de desplazamiento y el solapamiento de las áreas de actividad entre individuos. Además la ausencia de una clara estructuración genética en la población en función de la disposición espacial es un dato relevante a considerar. En este contexto, los resultados obtenidos generan nuevas interrogantes en torno a las estrategias reproductivas determinadas por estos patrones de utilización del espacio, así como los procesos vinculados la búsqueda y elección de la pareja.

---

## CAPÍTULO II

### Biología reproductiva de las hembras: estacionalidad y ciclo de estro

---

#### ANTECEDENTES

---

El estudio del comportamiento animal, y en particular del comportamiento reproductivo, ha sido tradicionalmente abordado enfatizando los mecanismos fisiológicos proximales o los factores evolutivos (Crews y Moore 1986). Las dos grandes categorías de restricciones sobre el éxito reproductivo, como medida de la eficacia evolutiva, son las ambientales (p.ej. disponibilidad de alimento o de sitios adecuados de cría) y las fisiológicas (p.ej. tiempo necesario de maduración de gametos o de crecimiento de las crías). Sobre esta base, han evolucionado en las especies mecanismos que permiten a los individuos optimizar el aprovechamiento de las condiciones ambientales favorables para la reproducción (Crews y Moore 1986). El éxito reproductivo depende por lo tanto de una precisa sincronización de las actividades del organismo con el ambiente externo, determinando la evolución de mecanismos de control del comportamiento reproductivo, donde las señales hormonales y sociales están involucradas. En ambientes de clima templado, los mamíferos en general exhiben una marcada estacionalidad reproductiva, vinculada a los costos de termorregulación que imponen las bajas temperaturas del invierno (Fournier et al. 1999). Aún ocupando cuevas que amortiguan las condiciones ambientales externas (Altuna 1991), estas restricciones también inciden en los roedores subterráneos que habitan estas latitudes. Por lo tanto factores ambientales físicos como fotoperíodo, temperatura, humedad y precipitaciones, que influyen a la vez en la disponibilidad de alimento, son claves en la determinación del inicio y duración de la estación reproductiva en estos animales (Bronson 1985, 1989; Ims 1990).

Debido al papel fundamental de la reproducción en la biología de los organismos, en diversas especies de roedores subterráneos se ha generado abundante información vinculada al tema, aunque fragmentaria en algunos casos (Bennett et al. 2000 y ref.). En el género *Ctenomys* se conocen los parámetros reproductivos básicos como duración y frecuencia de la preñez, tamaño de camada, estacionalidad reproductiva o patrones de desarrollo folicular en muy pocas especies, considerándose a *C. talarum* un referente con el cual contrastar nuevos resultados (Pearson et al. 1968, Malizia y Busch 1991, Rosi et al. 1992, 1996; Zenuto y Busch 1999, Zenuto et al. 1999, 2002). De todas maneras la

información en torno a este tema en las especies del Uruguay es escasa en *C. pearsoni* y *C. torquatus* (Lagomarsino y Momigliano 1961, Altuna et al. 1999) y nula en *C. rionegrensis*.

Se han establecido algunas generalizaciones respecto a la reproducción en este género como extensos períodos de preñez de alrededor de 100 días, estaciones reproductivas cortas, y ovulación inducida por la cópula, que al menos deberían ser revisadas y/o confirmadas para muchas especies (Zarrow y Clark 1968, Weir 1974, Weir y Rowland 1974). La mayoría de las investigaciones se centran en los datos que proporcionan las autopsias de los animales (Busch et al. 1989, Malizia y Bush 1991, Zenuto et al. 1999), metodología que impide, al menos directamente y sobre el mismo individuo, caracterizar los cambios de estado reproductivo a lo largo del tiempo. Por lo tanto, abordar el problema mediante captura, marcaje y recaptura de individuos a los largo de períodos de tiempo prolongados, estimar la condición reproductiva por métodos no invasivos conjuntamente con el seguimiento de individuos en cautiverio, permite incorporar la dimensión temporal en el análisis, complementando los resultados obtenidos en el campo y en el laboratorio.

En lo que a *C. rionegrensis* concierne, la determinación de la estacionalidad reproductiva y sus factores desencadenantes, y la caracterización de los ciclos estrales de las hembras, se constituyen en aspectos claves para entender las interacciones reproductivas entre los individuos. Hacia el objetivo de comprender la dinámica de los procesos de mantenimiento del polimorfismo en el color del pelaje en esta especie, confluyen los resultados presentados en este capítulo junto a los del capítulo anterior, en el entendido de que el conocimiento de aspectos básicos de la biología de los organismos es imprescindible para la comprensión de procesos evolutivos complejos.

Este trabajo es el primero que establece la estacionalidad reproductiva de una especie de tucu-tucus del Uruguay y su correlación con variables ambientales, a través del control de la población a lo largo de un año, mediante captura-marcaje y recaptura de individuos y determinación del estado reproductivo individual con técnicas citológicas. Complementar estos resultados con investigaciones de laboratorio permitió caracterizar el ciclo de estro de las hembras y la incidencia de diversos factores sociales como desencadenantes de la receptividad sexual. A partir de la ocurrencia de un parto en cautiverio se describe el desarrollo postnatal de las crías y las pautas del cuidado maternal.

## MÉTODOS

---

### Muestreo y mantenimiento de animales

La población dimórfica para el color del pelaje melánica y agutí de las localidades adyacentes El Tabaré (33° 21,48 S, 58° 18,59 W) y El Rincón (33° 20,43 S, 58° 17,45 W) fue analizada en un período comprendido entre diciembre de 2002 y julio de 2004, en 11 salidas de campo: diciembre 2002, enero, febrero, abril, mayo, junio, julio, octubre y diciembre 2003 en la primera localidad mencionada, mayo y julio de 2004 en la segunda. La captura, marcaje individual y recaptura de los tucu-tucus permitió el monitoreo de diversos aspectos de la biología reproductiva de la población a lo largo de un prolongado período (Tabla II-I).

Aunque el núcleo central de información para este trabajo proviene de estos muestreos, se consideraron fuentes complementarias los registros y observaciones derivados del trabajo de campo en El Rincón a lo largo del 2005 y el análisis del catálogo de la colectas realizadas por E. Lessa en El Tabaré entre octubre y diciembre de 1999 (Catálogo del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias).

**Tabla II-I.** Capturas totales en cada muestreo en las dos localidades en que se distribuye una población dimórfica para la coloración del pelaje, discriminados por sexo y color

	Hembras		Machos		total
	agutí	melánico	agutí	melánico	
El Tabaré					
Diciembre 02	1	1	7	1	10
Enero 03	3	0	3	2	8
Febrero 03	6	2	7	1	16
Abril 03	8	5	7	1	21
Mayo 03	10	1	7	3	21
Junio 03	11	8	9	4	32
Julio 03	40	15	23	6	84
Octubre 03	7	2	12	0	21
Diciembre 03	10	4	9	4	27
El Rincón					
Mayo 04	9	6	2	3	20
Julio 04	28	21	10	7	58

Utilizando trampas de captura viva (de cebo Oneida Victor N° 0 amortiguadas y de caja) colocadas en el interior de las galerías, se realizaron 326 capturas: 198 hembras y 128 machos. De todos los individuos se registró sexo y peso corporal (balanza Avinet 300x2 g), mientras que en las hembras además, se observó morfología vaginal externa así como grado de desarrollo y presencia de leche en las mamas. Se discriminó entre adultos y juveniles en base al peso corporal. Se consideraron machos y hembras juveniles aquellos con peso menor a 120 y 100 g respectivamente. Este criterio considera los datos de catálogo de la misma población en 1999, donde los individuos de mayor peso capturados junto a un adulto fue de 120 y 99 g para macho y hembra respectivamente. De todas maneras otras características como vagina sin perforar y en el caso de autopsia útero filiforme sin embriones ni marcas de placentación, se consideraron para la asignación de las hembras a este grupo.

El trabajo de campo en la localidad de El Tabaré se centró en el seguimiento de la población a partir de la captura, marcaje y recaptura de los animales con mapeo de su ubicación espacial a lo largo de un año completo desde diciembre 2002 a diciembre de 2003 en las siguientes condiciones. En todos los casos las capturas se realizaron en el día durante las horas de luz y posteriormente los animales fueron trasladados a un laboratorio de campo ubicado en Las Cañas (a 30 km de las localidades de captura) en jaulas individuales de alambre de 32x15x15 cm, donde fueron alojados en cajas de plástico individuales de 38x30x32 cm con sustrato de arena o viruta de madera y tapa de rejilla metálica. Se alimentaron con gramíneas frescas, zanahorias, y semillas de girasol *ad libitum* y no se modificaron las condiciones naturales de fotoperíodo. El período de cautividad no superó las 48 h, excepto en julio de 2003, en que alcanzó los 10 días en la mayoría de los individuos. Luego de las observaciones y experiencias en el “laboratorio de campo”, los animales fueron liberados en el mismo lugar de captura marcados con el corte de la falange de uno de los dedos de las patas posteriores siguiendo un código preestablecido que permitió identificarlos en sucesivas recapturas. Se procedió a la disección de los individuos muertos durante la captura o en cautiverio. En las hembras se consignó el número y tamaño de embriones y/o la presencia de cicatrices placentarias. El tejido proveniente de las marcas y las autopsias, se conservó en alcohol 95% y se encuentra depositado en la colección del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias. Se trasladaron al laboratorio de la Sección Etología, el 85% de los ejemplares capturados en El Rincón entre mayo y julio de 2004, para experimentación y fueron posteriormente sacrificados, manteniéndose los criterios de procesamiento y conservación de tejidos ya

mencionados. A los animales liberados en el campo, se les marcó con el mismo procedimiento que a los anteriores.

### Citología vaginal

A todas las hembras capturadas se les extrajo muestras de epitelio vaginal con un hisopo de algodón y el material obtenido se extendió a lo largo de una lámina portaobjetos de vidrio limpia, se tiñó con solución acuosa de cloruro de metilrosanilina al 1% (violeta de genciana) por 2 min, se retiró con agua el excedente de colorante y se fijó el preparado al calor del mechero. Al microscopio óptico (x10) se determinó la presencia y predominancia de los distintos tipos celulares (Corrada y Gobello 2001, Weinandy et al. 2001, Nelson 1995, Shanas et al. 1995). Este procedimiento se llevó a cabo inmediatamente después de la captura y cada dos días durante el cautiverio.

Para la caracterización del ciclo estral completo se tomaron muestras vaginales, en hembras adultas que permanecieron en cautiverio en el laboratorio de campo y fueron posteriormente trasladadas al laboratorio de Facultad de Ciencias: 12 hembras capturadas en julio 2003 y cuatro capturadas en mayo 2004.

Se procedió además a la inducción artificial al estro en hembras en cautiverio, entre marzo y setiembre de 2004, a través de inyección subcutánea de 25µg de estradiol base en 0,25 ml de aceite vegetal, seguido a las 48 h de la administración por la misma vía, de 0,5 mg de progesterona en igual cantidad del mismo vehículo (Sodersten y Hansen 1979, Sodersten et al. 1981)

### Ciclo estral y comportamiento

El comportamiento de los animales en las diferentes épocas determinadas por la actividad reproductiva, se analizó a través de la realización de enfrentamientos macho-hembra, en terrarios de vidrio con sustrato de arena, dentro de las 48 h posteriores a la captura. Se registraron las experiencias en video durante un máximo de 30 min. Se cuantificó la frecuencia de aparición de unidades comportamentales, la ocurrencia de intento de monta, de cópula y la latencia de ambas (Martin y Bateson 1991, Lehner 1996). Un total de 30 experiencias fueron realizadas entre diciembre del 2002 y del 2003. La frecuencia de las

unidades comportamentales de cortejo desplegadas por ambos miembros de la pareja, fueron analizadas con técnicas multivariadas, específicamente análisis factorial de correspondencias (AFC) (González-Valcarse 1991). Las variables fueron modificadas a través de la Ley de Taylor ya que existía heterocedasticidad a  $Z = x^{0.2}$  (Elliot 1983).

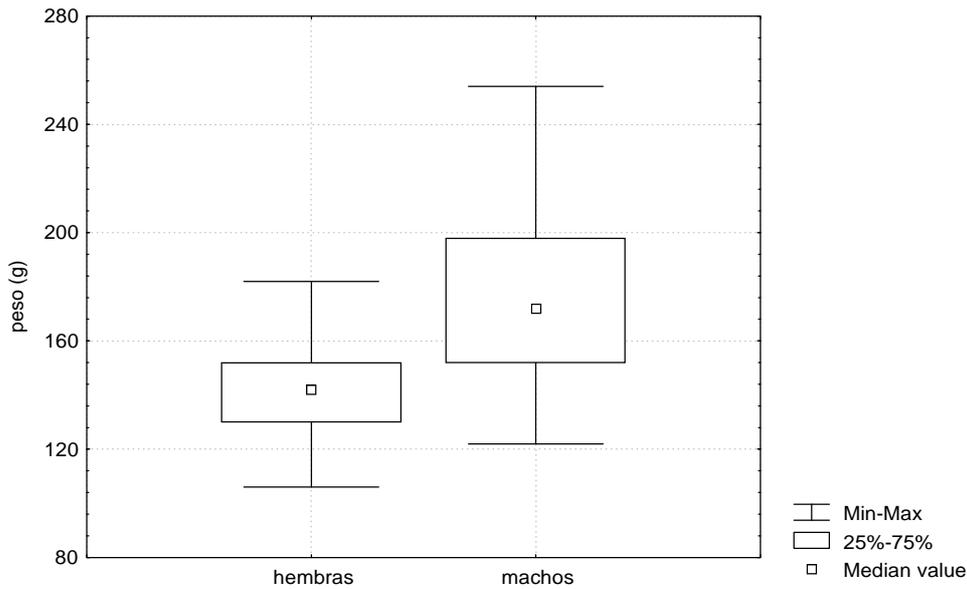
A efectos de correlacionar la receptividad al apareamiento y la fase en curso del ciclo estral en las hembras, fueron alojadas con machos durante un mínimo de 48 h, en terrarios con sustrato de arena y alimentación *ad libitum*. La ocurrencia de cópula se determinó por la presencia de espermatozoides en los frotis de las hembras realizados diariamente.

## RESULTADOS

---

### Dimorfismo sexual

El peso corporal de los machos adultos capturados se distribuye en un rango entre 128 g y 254 g ( $175,92 \pm 29,76$  g n=84), mientras que en las hembras, sin discriminar las gestantes va desde 108 g a 184 g ( $141,43 \pm 17,20$  g n=144). Los animales recapturados están considerados solamente en su primer registro. Las diferencias entre los sexos con respecto al tamaño corporal son significativas (Prueba Student para muestras independientes  $t=11,096$   $p \leq 0,0001$ ) y se mantienen al eliminar del análisis a las hembras con valores  $\leq 120$  g ( $t= 9,843$   $p \leq 0,0001$ , n=125 hembras). Se evidencia dimorfismo sexual en el tamaño corporal (Fig. II-1) aun cuando los valores en las hembras están sobrestimados debido a que en las hembras preñadas no se descuenta el peso correspondiente a sus embriones.



**Figura II-1.** Dimorfismo sexual en el tamaño corporal considerando los individuos de ambas localidades colectados entre diciembre 2002 y julio 2004, excluyéndose del análisis las recapturas (\*\* $t=11,096$ ,  $p \leq 0,001$ , Prueba t de Student para muestras independientes)

### Estacionalidad reproductiva

La actividad reproductiva a lo largo del período de estudio se evaluó básicamente a través de las características de los individuos vivos, pero se consideró también la información proveniente de autopsias de los animales muertos durante la captura o el cautiverio. En algunas hembras se detectó presencia de sangre en la vagina en la inspección externa o en el extendido celular. De 72 hembras capturadas en estas condiciones, durante el cautiverio 22 murieron, fueron disecadas y presentaban embriones ( $n=18$ ) o señales de reabsorción embrionaria ( $n=4$ ); además otras seis hembras abortaron y una parió dos crías. Al considerar esta muestra de 29 hembras con sangre en la vagina, todas estaban preñadas. Por otro lado, de 21 hembras a las que se realizó autopsia, y que no evidenciaron esta característica, ninguna presentó embriones en el útero, aunque marcas placentarias indicaron preñez previa en alguna de ellas. Sin embargo, una hembra en la cual no se registró mucus con sangre abortó en cautiverio. Se produce por lo tanto, una correspondencia casi completa tanto entre la presencia de sangre en la vagina y la condición de hembra gestante, como entre la ausencia de tapón sanguíneo y ausencia de embriones.

Si bien el 59,7% de las hembras capturadas que presentaban sangre en la vagina fueron liberadas y por lo tanto se desconoce con seguridad su estado reproductivo, los datos anteriores permiten considerar la formación de un tapón sanguíneo-mucoso en el conducto vaginal como un seguro elemento diagnóstico de preñez. Las etapas avanzadas de gestación se acompañan además, de distensión abdominal y mamas visibles. En la población de El Tabaré, en junio comenzó la aparición de hembras gestantes en bajos porcentajes (6%), con una prevalencia de preñez en julio de 60% que disminuyó hacia diciembre donde alcanzó el 30% de hembras adultas capturadas (Fig. II-2). Al complementar esta información con los datos recogidos entre mayo 2004 y noviembre 2005 en la localidad vecina de El Rincón, en julio el 58% de las hembras estaban preñadas, proporción que aumentó en agosto a 81% y descendió hacia noviembre (22%).

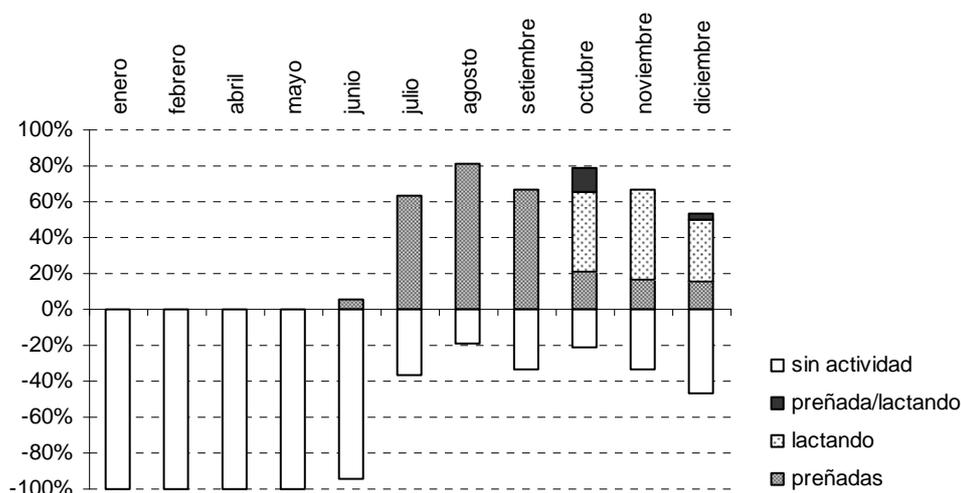
La captura reiterada de hembras marcadas permitió el seguimiento de su estado reproductivo a lo largo del período de estudio. Se registró preñez en la misma hembra en julio y diciembre del mismo año. Otra hembra preñada en julio, en octubre estaba amamantando y preñada a la vez, mientras que a los 48 días en una nueva captura, abortó tres embriones. Estos resultados evidencian que las hembras están preñadas dos veces en el año y pueden por lo tanto llegar a criar dos camadas en el mismo período reproductivo.

Respecto a la cantidad de embriones, en 18 hembras preñadas muertas en cautiverio, a través de autopsia se contabilizaron entre uno y tres embriones ( $2,05 \pm 0,65$  embriones/hembra). Las hembras amamantando poseen las mamas alargadas, con leche y alopecia en el área circundante, siendo capturadas entre octubre y diciembre (66% y 50% respectivamente), con evidencia en alguna de ellas de estar preñadas (dos en octubre y una en diciembre).

Estos resultados coinciden con los datos de la misma población en 1999 donde entre octubre y diciembre el 48% de las hembras se encontraba amamantando a las crías. En la localidad vecina de El Rincón el muestreo de noviembre 2005 reveló también una elevada proporción de lactancia (39%) entre las hembras adultas capturadas.

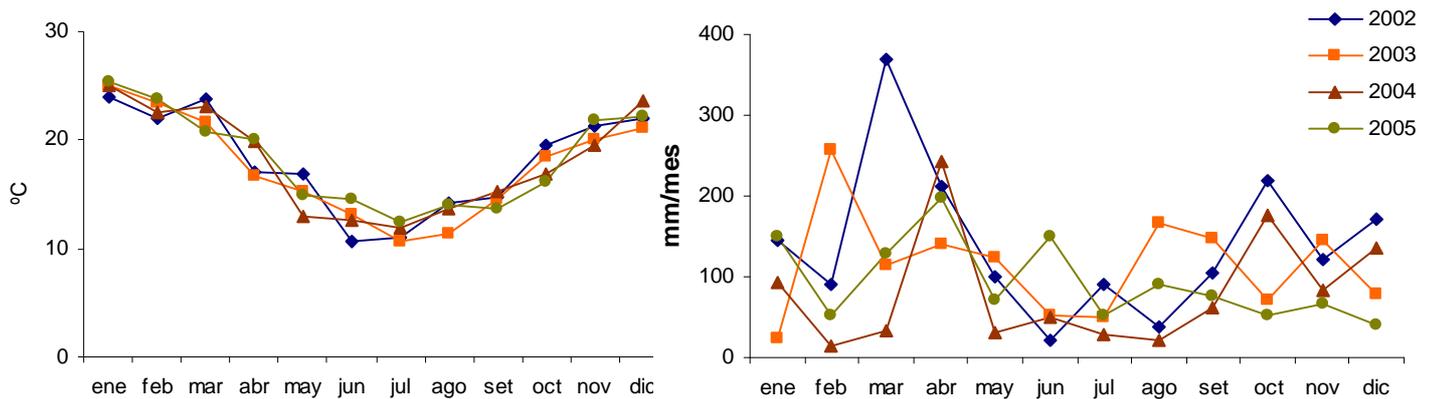
Los datos de esta población en los diferentes años de muestreo y en las dos localidades mencionadas siguen el mismo patrón de estacionalidad con respecto a la actividad reproductiva de las hembras (Fig. II-2). A partir del mes de junio comienza los apareamientos, entre julio y setiembre se observa la mayor proporción de hembras

gestantes, mientras que al inicio de la primavera nacen las crías y como consecuencia aumenta la prevalencia de lactancia que se mantiene hasta diciembre. En el período comprendido entre octubre y diciembre se registran además hembras preñadas amantando a una camada anterior en forma simultánea, evidencia de la ocurrencia en esta población de un estro post-parto (o mid-lactancia).



**Figura II-2.** Estado reproductivo de las hembras en los diferentes meses del año. Se registra inactividad entre enero y mayo, aumento de la prevalencia de preñez a partir de junio, aparición de hembras lactantes desde octubre, conjuntamente con la aparición de hembras lactantes y preñadas simultáneamente. Se considera la totalidad de los datos obtenidos en La Tabaré en 1999 y 2002-2003, y en El Rincón en 2004-2005.

La variación anual de temperatura muestra un patrón estable entre años, con valores mínimos en julio y máximos en enero mediados por cambios graduales. Las precipitaciones aunque abundantes (entre 1000 y 1600 mm anuales) no son regulares, existiendo importante variabilidad en los valores del mismo mes en años diferentes (Fig. II-3)



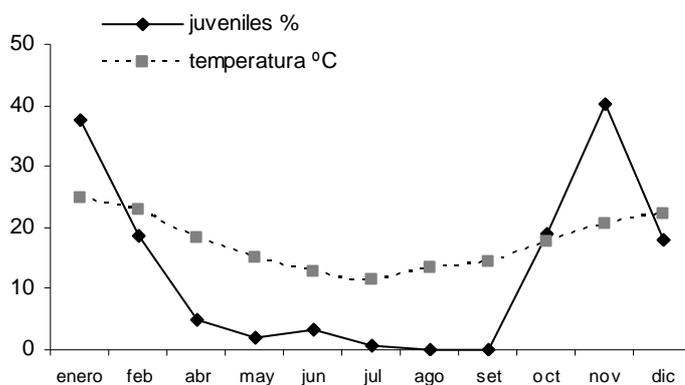
**Figura II-3.** Temperatura media mensual (°C) y precipitaciones (mm/mes) en los diferentes meses a lo largo del período de estudio. Datos de la estación meteorológica más cercana a las localidades de muestreo (Mercedes, Dpto Soriano, 33,25° S, 58,07° W, Dirección Nacional de Meteorología)

Se observa una marcada estacionalidad reproductiva vinculada a los cambios de temperatura, con una correlación negativa entre esta variable y la prevalencia de preñez (Correlación de rangos de Spearman,  $r = -0,585$ ,  $p < 0,04$ ), de tal manera que el descenso de la temperatura previo al inicio del invierno, coincide con el comienzo de la época de apareamientos. Luego de 98 -105 días de gestación, a partir del inicio de la primavera nacen las crías, registrándose hembras amamantando desde octubre hasta diciembre. En ese mismo período se produce un pico secundario de gestación mediado por un estro post-parto, de tal manera que hasta fines de diciembre se produce nacimiento de crías.

En El Tabaré, a lo largo de un año entero de muestreo entre diciembre de 2002 y 2003, se capturaron 18 individuos juveniles en un total de 240 ejemplares (ver Fig. I-6), lo que corresponde a 7,5% de todas las capturas. Entre éstos, 14 corresponden a los muestreos de diciembre, enero y febrero, registrándose en estos meses los porcentajes más altos de población juvenil (25,9%, 37,5% y 18,8% respectivamente). Los de menor peso corresponden a diciembre ( $94,6 \pm 17,2$  g) y aumentan en enero y febrero ( $107 \pm 4,2$  g y  $114,5 \pm 7,8$  g respectivamente) (Regresión lineal  $r = 0,40$   $p \leq 0,05$ ).

En los muestreos realizados en El Rincón, en noviembre 2005, más de la mitad de las capturas corresponden a juveniles (58%,  $n=11$ ) con un peso promedio de  $81,1 \pm 13,25$  g. De la información proveniente de la colecta en la localidad El Tabaré con un intenso esfuerzo de muestreo entre los meses de octubre y diciembre de 1999 el 26,7% de las

capturas corresponden a crías. En esta oportunidad se procedió a la captura exclusivamente con trampas de caja, que quedaban colocadas inclusive durante la noche y se procedió a la extracción de los animales capturados. Al considerar la totalidad de los juveniles colectados en las diferentes campañas se evidencia claramente que aparecen a partir de octubre y aumenta su proporción en la población hasta mediados de verano. Existe correlación positiva entre la proporción de juveniles en el total de la población y la temperatura como se visualiza en la Fig. II-4 (Correlación de rangos de Spearman  $r=0,834$ ,  $p\leq 0,001$ )

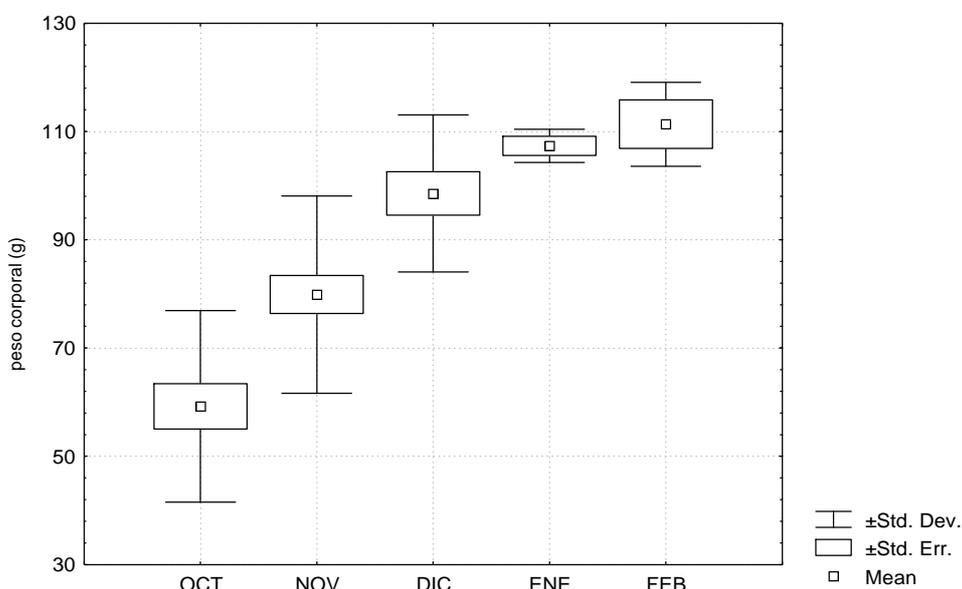


**Figura II-4.** La proporción de individuos juveniles (%) capturados en diferentes meses a lo largo del año (muestréos de 1999, 2002-2003 y 2005 en El Tabaré y El Rincón) en la población dimórfica posee una correlación positiva con la temperatura del ambiente (°C) (Correlación de rangos de Spearman,  $r= 0,834$ ,  $p\leq 0,001$ ). Los datos de temperatura provienen de la estación meteorológica más cercana a las localidades de muestreo (Mercedes, Dpto Soriano, 33,25° S, 58,07° W, Dirección Nacional de Meteorología)

En este sentido se constata además el incremento del peso de las crías a partir del mes de octubre (Tabla II-II), correlacionado también en forma positiva con la temperatura (Regresión lineal  $r=0,69$   $p\leq 0,05$ ), con diferencias significativas entre los meses de octubre, noviembre y diciembre, que no se mantienen en la comparación pareada entre los meses posteriores (Prueba t de Student para muestras independientes, Fig. II-5)

**Tabla II-II.** Peso corporal de los juveniles en diferentes meses en las localidades El Tabaré y El Rincón, entre paréntesis se indica el número de ejemplares capturados

	El Tabaré 1999	El Tabaré 2002-03	El Rincón 2005
	$x \pm ds$ (g)	$x \pm ds$ (g)	$x \pm ds$ (g)
Octubre	59,22 $\pm$ 17,67 (18)		
Noviembre	80,19 $\pm$ 23,07 (16)		81,09 $\pm$ 13,25 (11)
Diciembre	104,80 $\pm$ 5,76 (5)	94,63 $\pm$ 17,20 (8)	
Enero		107,0 $\pm$ 3,06 (3)	
Febrero		111,3 $\pm$ 7,77 (3)	



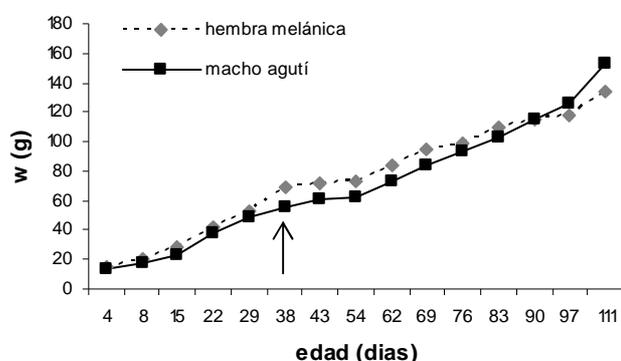
**Figura II-5.** El peso corporal de los individuos juveniles capturados se incrementa a partir de octubre hasta febrero, evidencia de que el pico de nacimientos se produce al inicio de la primavera (regresión lineal  $r=0,691$ ,  $p \leq 0,05$ ). Se consideran todos los juveniles independientemente del año de muestreo (\*\*  $t = -3,77$ ,  $p \leq 0,01$ ; \*  $t = -3,22$   $p \leq 0,05$ , Prueba t de Student para muestras pareadas).

El análisis conjunto de estos resultados demuestra que la mayoría de los nacimientos ocurren al inicio de la primavera y continúan al menos hasta fines de diciembre. A partir de ese momento no se capturan juveniles de peso menor a 100 g, tamaño que corresponde a una edad aproximada de tres meses (Cuadro II-1), mientras que ninguna de las crías

excede esa cifra en octubre. La cría capturada de menor peso es de 38 g (edad tres semanas) y corresponde a octubre.

### Cuadro II-1. Desarrollo postnatal de las crías y cuidado maternal

En octubre 2003 se produjo en cautiverio el parto de una hembra agutí capturada en estado de preñez (parió una cría agutí y otra melánica) lo que permitió establecer la evolución de las crías en relación al peso, comportamiento de lactancia y ocurrencia de destete mediante la observación diaria durante 111 días.



**Figura II-6.** Evolución del peso de dos crías nacidas en cautiverio y alojadas conjuntamente a su madre hasta la edad de 111 días. Se indica con una flecha el momento del destete (día 38)

Las crías al nacer son claramente dependientes del cuidado materno: la cobertura de pelos, aunque completa, es escasa, mantienen los ojos cerrados y se alimentan exclusivamente de leche materna hasta los 8 días, momento en que comienzan a ingerir alimentos sólidos acarreados por la madre hacia el nido. El destete se considera a partir del primero de tres días consecutivos que no se observa lactancia por parte de las crías durante el período de observación (Pereira en prensa), ocurriendo en este caso 38 días después del parto (Fig. II-6). De todas maneras madre y crías permanecieron en el mismo terrario por casi 4 meses sin que se registraran pautas agresivas por parte de la madre o entre los hermanos. La ganancia de peso en las crías es diferente en función del sexo: desde el nacimiento hasta el destete la hembra aumenta 1,6 g/día y el macho 1,2 g/d, mientras que a partir del consumo exclusivo de alimentos sólidos ganan 0,9 y 1,4 g/d respectivamente.

### Reabsorción y aborto

La reabsorción embrionaria en etapas iniciales de la preñez se ha constatado a través de la autopsia de hembras muertas en cautiverio (n=4), con la presencia de abundante sangre en los cuernos uterinos, acompañado en algunas ocasiones de masas embrionarias informes. Además en hembras preñadas capturadas en el campo (presencia de sangre en la vagina, pero sin mamas desarrolladas, n=5) controladas en cautividad, se constató la ausencia de mucus sanguinolento luego de entre 9 y 10 días. También se observó el aborto de fetos de diferente grado de desarrollo que fueron siempre ingeridos por las hembras total o parcialmente (n=6)

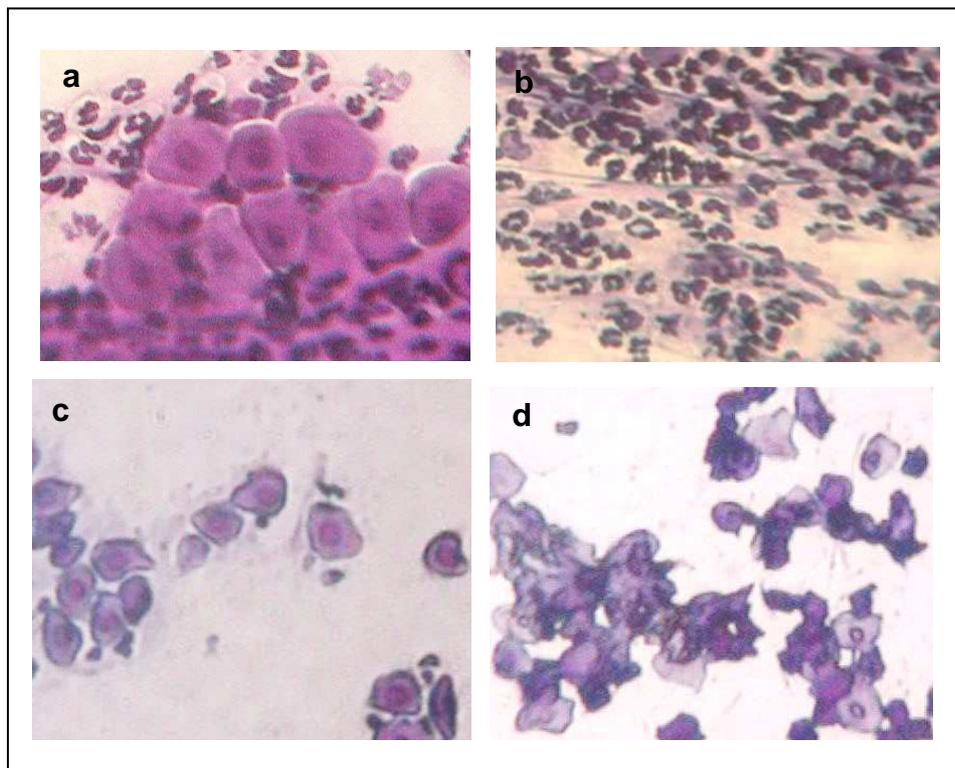
### Citología vaginal y ciclo estral

De los exudados obtenidos inmediatamente a la captura o durante el cautiverio, a lo largo del año, el 43 % exhibe amplia predominancia de leucocitos, con presencia esporádica de células parabasales e intermedias y ausencia de células epiteliales superficiales. Sin embargo, en cinco hembras capturadas en julio 2003, mantenidas en cautiverio en el laboratorio fue posible abarcar la totalidad de las etapas del ciclo estral y establecer sus características (Fig. II-7)

- a. Proestro: comienza con la predominancia de leucocitos matizado con células intermedias y células superficiales con núcleo cuya proporción aumenta notoriamente hacia el final de la etapa. Se registra la presencia de mucus blanquecino. Aunque la información es fragmentaria, puede establecerse con claridad la duración mínima de esta etapa en 4 días.
- b. Estro: se caracteriza por la presencia exclusiva de células superficiales, en su mayoría cornificadas. También cambia la morfología externa de la vagina, que se observa abierta y relativamente tumescente, mientras el mucus se transforma en una secreción fluida y transparente, lo cual produce que el extendido se vea limpio. Esta etapa dura entre 3 y 5 días.
- c. Metaestro: reaparecen el mucus y los leucocitos, que aumentan progresivamente su abundancia con una disposición típica alrededor de células superficiales

aisladas. La desaparición total de las células superficiales se produce entre los 5 y 10 días del comienzo de esta etapa.

- d. Diestro-Anestro: etapas difícilmente diferenciables entre sí, a menos que el seguimiento a través de un prolongado período de tiempo indique el comienzo de un nuevo ciclo. Se caracterizan por la dominancia de leucocitos con presencia esporádica de células parabasales e intermedias y ausencia de células superficiales.



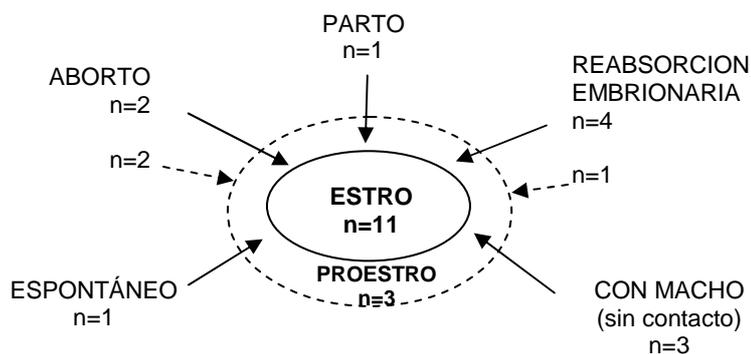
**Figura II-7.** Diferentes tipos celulares del epitelio vaginal que permiten diagnosticar las etapas del ciclo de estro: a) células parabasales y leucocitos, b) leucocitos, c) células intermedias, d) células superficiales nucleadas y anucleadas (cornificadas)

No se registran muestras aisladas donde dominen las células superficiales, sino que la presencia de éstas se enmarca en un proceso gradual de cambios celulares que se produce aproximadamente a lo largo de 10 días. Los preparados de hembras preñadas se distinguen por la presencia de mucus sanguinolento donde es difícil distinguir células.

La ocurrencia del estro (Fig. II-8) se registró en hembras que:

- a. abortaron en cautiverio (n=2)
- b. preñadas en la captura, durante el cautiverio dejaron de presentar sangre en la vagina, por lo que se asume un proceso de reabsorción embrionaria (n=4)
- c. presentó signos de parición reciente al momento de la captura (n=1)
- d. fueron alojadas cada una en la misma caja que un macho separados por una rejilla metálica, impidiendo el contacto directo (n=3).
- e. mantenida en cautiverio, no sufrió perturbaciones aparentes (n=1).

También fueron registrados cambios en la citología vaginal de hembras que exhibieron un marcado proestro durante 3 días, y sin llegar a la fase de estro, las células superficiales disminuyeron en frecuencia en sus exudados. En este grupo se ubica una hembra con señales de reabsorción embrionaria y dos que abortaron luego de enfrentamientos experimentales con machos. Solamente dos hembras estaban en estro en el momento de la captura correspondientes a mayo y junio respectivamente.



**Figura II-8.** Esquema indicativo de las diversas circunstancias en que se registró fase de estro en hembras durante el cautiverio. Las líneas enteras indican las hembras que exhibieron estro, mientras las líneas punteadas las que alcanzaron la fase de proestro

A través de las muestras de citología vaginal de las hembras al momento de la captura y la caracterización del ciclo estral fue posible distinguir entre la inactividad reproductiva o anestro y las hembras "ciclando" o cursando algunas de las etapas del ciclo (proestro, estro o metaestro). En ese contexto, de enero a abril la totalidad de las hembras se encontraron en anestro, mientras que a partir de mayo comenzó la actividad reproductiva y

18% de las capturadas estaban ciclando. En junio la proporción de hembras activas, cursando algunas de las etapas del ciclo fue la máxima registrada (30%).

La integración de esta información con la manifestación de la fase de estro en cautiverio, permite inferir que durante la estación reproductiva se producen ciclos de estro en las hembras, que se interrumpen con la fecundación y se reinician luego del parto, el aborto o la reabsorción de los embriones.

### Inducción hormonal al estro

Se logró inducir la fase de estro mediante administración de estradiol base y progesterona en 28 hembras. En este grupo la etapa del proestro fue muy breve (24 h) debido a que los picos de estrógeno y progesterona se produjeron muy próximos en el tiempo, mientras que el estro y metaestro tuvieron la misma duración y características que en los ciclos naturales.

### Receptividad de las hembras al apareamiento

Del total de 10 hembras con tratamiento alojadas conjuntamente con un macho al menos dos días la mayoría (n=6) exhibió espermatozoides en los frotis de control realizados diariamente, evidencia de la ocurrencia de cópula. En todos los casos la aparición de espermatozoides coincidió con la presencia de células superficiales, ya sea durante el estro (n=3) o en proestro (n=3). En dos de las cuatro restantes fracasó el tratamiento hormonal en la inducción del estro y en las otras dos, la fase de estro había terminado al comienzo del alojamiento conjunto.

En hembras sin tratamiento hormonal alojadas conjuntamente con un macho (n=5) durante la época de apareamiento (julio 2003), se constató la ocurrencia de cópula en dos de ellas, en frotis donde a pesar de la presencia de leucocitos, se ubicaron en medio de episodios donde dominaban las células superficiales. Una hembra nacida en cautiverio en octubre, fue copulada durante el proestro temprano en junio en el laboratorio, escapada de su terrario. No se registró la presencia de espermatozoides durante metaestro ni diestro en ningún caso.

### Madurez sexual y longevidad

La captura sucesiva de los mismos ejemplares a lo largo de períodos prolongados, permitió estimar la longevidad y el tiempo necesario en alcanzar la madurez sexual. Considerando la captura de una hembra adulta en agosto de 2001 (y por lo tanto nacida al menos en la primavera del año anterior) y su recaptura en julio de 2003, se puede establecer longevidad en 32 meses. Además 12 individuos adultos (9 hembras y 3 machos) capturados en julio de 2002 (nacidos al menos en la primavera del 2001) fueron recapturados en diferentes meses del 2003, lo que indicaría una sobrevivencia de entre 2 y 2 ½ años.

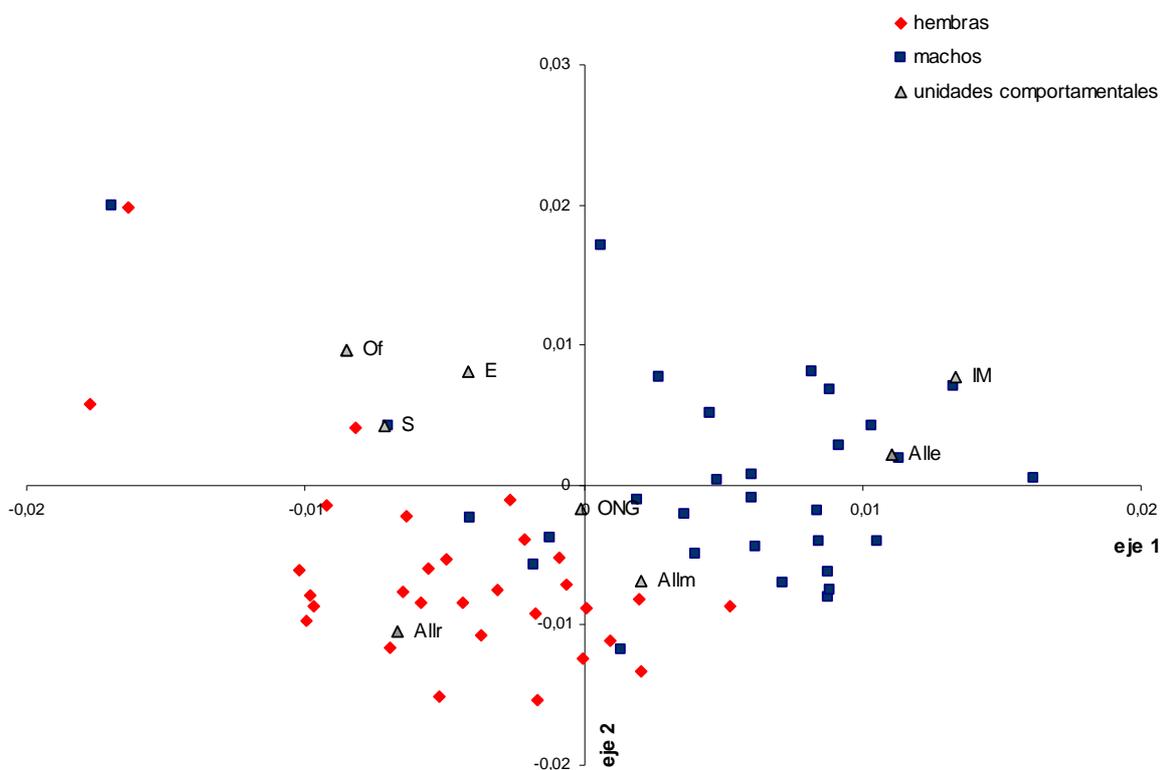
Observaciones puntuales permiten inferir que las hembras son sexualmente maduras en la estación reproductiva siguiente a su nacimiento: una hembra juvenil capturada en enero estaba preñada en diciembre del mismo año, y otra que nació en cautividad en octubre, en junio del siguiente año fue copulada en proestro. La misma evidencia permitió confirmar que un macho juvenil (peso 98 g) capturado en diciembre, en abril siguiente (edad aproximada 7 meses), copuló a una hembra en estro inducido, exhibiendo espermatozoides el frotis realizado luego del enfrentamiento.

### Estacionalidad reproductiva y comportamiento

De los 30 enfrentamientos macho-hembra registrados a lo largo del año, solamente en cuatro oportunidades se produjo cópula, y corresponden a la estación reproductiva (dos en junio, una en octubre y otra en diciembre), mientras los machos realizaron intentos de monta con una frecuencia que no revela diferencias significativas entre estaciones (Prueba de Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ). Sin embargo, los comportamientos de estimulación fueron efectuados con mayor frecuencia durante la época reproductiva (Prueba de Mann-Whitney,  $p \leq 0,01$ ). De todas maneras se observa una gran variabilidad individual en ambos sexos en la respuesta intersexual.

En el análisis factorial de correspondencias el eje 1 explica el 28,9 % de la variabilidad total de los datos y separa a los comportamientos de estimulación hacia el lado positivo y a los agonísticos hacia el negativo, exceptuando la recepción de estimulación (Allr), comportamiento asociado a las hembras. En general además, discrimina entre los machos y las hembras que exhiben valores significativamente diferentes en este eje (Prueba de

Mann-Whitney  $p \leq 0,001$ ). En función del segundo eje, que explica 26,7% de la variabilidad, se reparten los comportamientos agonísticos, con excepción del intento de monta (IM), que está asociado a los machos al igual que el despliegue de conductas de estimulación (Alle). En este sentido, en los valores generados por este eje se produce una correlación positiva entre machos y hembras (Correlación de Spearman  $r_s = 0,502$   $p \leq 0,01$ ). Se observa una clara vinculación de las hembras con la recepción de estimulación (Allr) y dispersión de algunas parejas alrededor de los comportamientos agonísticos de orientación frontal (Of), embestida (E) y sumisión (S), sin que se produzca una estrecha relación (Fig. II-9).



**Figura II-9.** Análisis Factorial de Correspondencia del comportamiento de los individuos en los enfrentamientos macho-hembra. El eje 1 explica 28,9% y el eje 2 el 26,7% de la variabilidad total de los datos. Los animales se identifican por sexo. Las conductas agonísticas son orientación frontal (Of), embestida (E) y sumisión (S). Las de estimulación corresponden a aloaseo efector (Alle), aloaseo receptor (Allr), aloaseo mutuo (Allm), orientación naso-genital (ONG). El intento de monta (IM) es una unidad exclusiva de los machos. Las hembras se asocian principalmente a los comportamientos vinculados a la recepción de estimulación, mientras los machos a los comportamientos más efectoros. No se registra asociación de ninguno de los dos sexos a las conductas agonísticas.

Se observan diferencias significativas en los valores del eje 2 entre las hembras en los diferentes períodos reproductivos (sin actividad, apareamiento y parto-postparto) (Prueba de Kruskal-Wallis,  $p \leq 0,05$ ). En el caso de los machos, las diferencias significativas entre los períodos reproductivos se generan en la comparación de los valores del eje 1 (Prueba de Kruskal-Wallis,  $p \leq 0,01$ ).

## DISCUSIÓN

---

La estrategia de investigación longitudinal en la misma población a lo largo de un período de tiempo prolongado, combinado con el empleo de captura, marcaje y recaptura de individuos ha permitido profundizar el conocimiento de parámetros reproductivos básicos de esta especie: estacionalidad de la reproducción, tamaño y número de camadas, desarrollo de las crías, madurez sexual y longevidad. Por otro lado, esta aproximación dificulta la categorización reproductiva y etaria más compleja, debido a la imposibilidad de cuantificar el grado de osificación humeral, el peso del cristalino, la morfología de la pelvis en el caso de las hembras, o el tamaño testicular y presencia de espermatozoides en epidídimo en los machos (Malizia y Busch 1991, Rossi et al. 1992, Zenuto et al. 1999). De todas maneras, la discriminación de adultos y juveniles en función del peso se basa en información del campo y el laboratorio, y coincide con los datos reportados para *C. talarum* correlacionando el grado de osificación humeral y el peso de los individuos (Malizia y Busch 1991). En este sentido, en las hembras es necesario, además de este criterio, considerar otros caracteres, como vagina sin perforar para la determinación etaria y reproductiva, debido a que durante la lactancia, las hembras bajan considerablemente de peso, inclusive por debajo de los 100 g.

Asimismo, la puesta a punto y utilización de la técnica de citología vaginal para estimar el estado reproductivo de las hembras tanto en el campo como en el laboratorio, conjuntamente con el monitoreo de hembras en diversas condiciones, permitieron caracterizar las fases del ciclo estral e indagar acerca de los posibles factores desencadenantes del estro. Este procedimiento de sencilla implementación, inclusive en las precarias condiciones del trabajo de campo, de bajo costo y muy poco invasivo (Langkilde y Shine 2006), permite establecer con confianza el estado reproductivo de las hembras. La incorporación de esta metodología a la rutina de captura de animales

posibilita la adquisición de datos más precisos con respecto al nivel de actividad reproductiva individual y poblacional, a la vez que facilita la toma de decisiones con respecto al destino de los individuos y su utilización racional en fases experimentales.

### Dimorfismo sexual

Los tucu-tucus de esta población presentan un marcado dimorfismo sexual en el tamaño corporal, aun cuando las hembras preñadas no se discriminaron y el peso de los embriones está incorporado, de tal manera que la proporción calculada 1,25 está subestimada. Valores similares en relación a la tasa de diferencias entre tamaño corporal de machos y hembras han sido reportados en otras especies del género: *C. talarum* (Malizia y Busch 1991, Zenuto et al. 1999), *C. australis* (Zenuto y Busch 1998) y *C. opimus* (Pearson 1959) e inclusive en otros roedores subterráneos (Bennett et al. 2000) sin que necesariamente sea una regla dentro de este grupo. El dimorfismo sexual en relación al tamaño a favor de los machos, en mamíferos en general ha sido ampliamente explicado por los modelos de selección sexual vinculado a sistemas poligínicos, en el sentido de favorecer machos más grandes y competitivos (Trivers 1972). Otros factores, como diferencias en la selección de dieta o el uso del hábitat, pueden estar implicados también en la evolución de esta característica (Isaac 2005). Sin embargo, los tucu-tucus son herbívoros generalistas (Comparatore et al. 1995, Tassinio 1999) y no se han registrado diferencias sexuales en las preferencias alimentarias ni la elección de hábitat. El alto valor de densidad que en algunas especies, incluida *C. rionegrensis*, supera los 60 ind/há podría incidir como una presión a favor de la mayor competitividad en los machos que se expresa a través de un mayor tamaño corporal. Sin embargo, no hemos observado machos con heridas o evidencia de agresión en el campo mientras que en el laboratorio en enfrentamientos intrasexuales aun en época de apareamientos el nivel de agresividad es mucho menor que en *C. pearsoni* (obs. pers.). La tasa de crecimiento de las crías nacidas en cautiverio exhibió un valor más alto a partir del destete para el macho que para la hembra, lo cual podría indicar una mayor eficiencia en la adquisición como en la asimilación del alimento. Una explicación alternativa sugerida por McNab (1966) se refiere a que tamaños más pequeños en las hembras ayudan a mantener la producción de calor durante la preñez. De todas maneras se revela interesante una exploración acerca de este patrón en poblaciones con diversas condiciones de disponibilidad de alimento, compactación del suelo y densidad poblacional.

### Determinación de la edad y el estado reproductivo de los individuos

La función del ovario induce la modificación del epitelio vaginal, en un proceso donde es posible identificar diferentes etapas según la predominancia o inclusive la ausencia de determinado tipo celular. El análisis de la citología vaginal en base a estas variables categóricas implica la adopción de un criterio más cualitativo que cuantitativo para la correlación entre el resultado del exudado y la fase del ciclo estral en curso. Consideramos que la determinación cualitativa no solamente es más adecuada para una correcta asignación de la etapa del ciclo, sino de suma utilidad y sencilla implementación en estudios de campo y laboratorio.

Otro aspecto importante a tener en cuenta es la discriminación entre las diferentes células nucleadas (parabasales, intermedias y superficiales) ya que la determinación de la fase de estro se centra en la neta predominancia de células superficiales que conservan el núcleo o que se han cornificadas (Corrada y Gomendio 2001). La clasificación de las células del epitelio vaginal en leucocitos, nucleadas y cornificadas (Shanas et al. 1995, Fanjul et al. en prensa) impide una acertada determinación del resultado citológico. La descripción y caracterización de las etapas componentes del ciclo estral y la respuesta de receptividad de las hembras que constan en este trabajo sustentan la adopción de este criterio.

Si bien la apertura y cierre de la vagina en las hembras no aparece como una variable capaz de discriminar claramente el estado de las hembras, aporta para este fin al asociarse a otros caracteres. Las hembras en estro, además de presentar neta predominancia de células superficiales, ausencia de leucocitos, mucus fluido y transparente, poseen vagina abierta con cierto grado de tumescencia, fácilmente apreciable en un examen macroscópico. Por el contrario en las hembras juveniles la membrana vaginal está sin perforar. En estos roedores son frecuentes los ciclos regulares de apertura y cierre de la vagina, por lo que la consideración de esta condición debe ser acompañada de otros elementos para la determinación del estado reproductivo. Las hembras en etapas avanzadas de preñez poseen las mamas visibles y el abdomen engrosado, pero al inicio de la gestación estas características no son evidentes. Establecer la presencia de sangre en la vagina como elemento diagnóstico de la preñez, ha sido un importante avance en el sentido de mejorar la determinación del estado reproductivo tanto en la exploración de los parámetros poblacionales, como en la elección de los individuos para experimentación. Aunque no conocemos aun las bases fisiológicas de esta respuesta, la misma característica ha sido reportada recientemente en hembras gestantes

de *C. talarum* (Fanjul et al. en prensa), lo cual reafirma la validez de nuestro criterio. Vinculado a la experimentación en aspectos reproductivos, la capacidad de provocar el estro a través de la administración hormonal ha abierto la posibilidad de controlar una variable de difícil manejo como es la fase del ciclo sexual de la hembra.

La mayor dificultad vinculada a la determinación de la actividad reproductiva en los machos se vincula a que los *Ctenomys* no poseen saco escrotal y los testículos permanecen todo el tiempo en el canal inguinal o la cavidad abdominal. La integración de varios criterios para establecer en animales vivos una distinción objetiva de grupos de edad, es necesaria para poder lograr mejores estimaciones de longevidad, predación diferencial y patrones de dispersión

### Estacionalidad reproductiva

La aparición de juveniles en las trampas a partir de octubre, conjuntamente con la captura de los juveniles de menor tamaño, y de edad estimada a partir de las crías en cautiverio entre tres y cuatro semanas, permite establecer que los partos comienzan a mediados de setiembre. Durante los primeros 15 días las crías se mantienen junto a su madre la mayor parte del tiempo; sin embargo a partir de la tercera semana comienzan a explorar el entorno y proveerse de alimentos (datos obtenidos a partir de la observación de las crías nacidas en cautiverio). Durante este período también las madres permanecen más del 80% del tiempo en el nido, por lo que la representación en la captura de hembras lactantes en este período es escasa. En el muestreo de octubre 2003 en El Tabaré, el número de hembras capturadas fue muy inferior al de los machos. En este sentido los elevados requerimientos de energía que demanda el amamantamiento de las crías (Zenuto et al. 2002) implican necesariamente una adquisición de alimentos más eficiente a lo que se suma que, a partir de la semana de nacidas, las crías comienzan a ingerir alimentos sólidos acarreados hasta el nido por la madre. Posiblemente en esta etapa se modifica el patrón de actividad de las hembras. A medida que avanza la primavera, los juveniles capturados son promedialmente de mayor tamaño.

En los ambientes caracterizados por la variación estacional en temperatura y disponibilidad de alimento, estos factores ejercen una presión de selección en el sentido de favorecer la reproducción durante el período de éxito potencial máximo (Bronson 1989). Además en pequeños mamíferos herbívoros, la reproducción puede estar influida por la

calidad del forraje determinada por la cantidad de fibra dietaria, y no simplemente por la abundancia (Fournier et al. 1999). En las zonas de clima templado como el nuestro, es la temperatura la responsable del cambio estacional, mientras el régimen de pluviosidad no responde a un patrón definido en cada estación y a lo largo de los años.

La estacionalidad reproductiva de los tucu-tucus que habitan en esta zona se mantiene constante en diferentes años de estudio, con la época de apareamientos en los meses más fríos y el consiguiente pico de partos en primavera luego de una gestación en el entorno de los 100 días (Weir 1974, Zenuto et al. 2002). Aun cuando la fluctuación en la cobertura vegetal responda al volumen de lluvias, el rebrote y floración están determinados principalmente por el fotoperíodo de manera que entre octubre y diciembre cuando ocurren la mayoría de los partos y la lactancia de las crías, las condiciones de temperatura y disponibilidad alimentaria son óptimas. Muchos roedores subterráneos, incluyendo los tucu-tucus, salen de sus cuevas para forrajear, por lo que la temperatura ambiental y el fotoperíodo son claves ambientales proximales, disponibles para estos animales, inclusive para regular el ritmo diario de sus actividades (Bennet et al. 2000).

Existen restricciones en estos animales impuestas por la temperatura del ambiente debido a que las crías termorregulan deficientemente las primeras dos semanas de vida (Zenuto et al. 2002, Cutrera et al. 2004), lo cual impone una fuerte limitante a que los nacimientos se produzcan durante el invierno. Las temperaturas muy altas del verano afectan también a los adultos que disminuyen notablemente la actividad entre las 10 y las 16 hs, con una notable disminución de las capturas durante el verano (Capítulo 1), determinada posiblemente por la posibilidad de aumentar el riesgo de deshidratación al no consumir más agua de la que proveen las plantas ingeridas (Tassino 1999).

La condición de herbívoros generalistas de la mayoría de las especies en este género (Comparatore et al. 1991, Tassino 1999, del Valle et al. 2001) no impone restricciones con respecto a la disponibilidad de alguna especie vegetal en particular, pero la abundancia de recursos durante la lactancia de las hembras podría ser un factor importante en la determinación de la estacionalidad descrita, debido a los altos requerimientos nutricionales en esa etapa (Zenuto et al. 2000, Antinuchi et al. 2002, Veloso 2002). Una experiencia donde se modifique la temperatura mientras el fotoperíodo se mantiene constante o viceversa, permitiría discernir el peso de cada una de estas claves ambientales como activadores de la reproducción. Esta estrategia permite además aprovechar las condiciones favorables de la primavera en una segunda camada a través del estro

postparto. La captura de hembras preñadas y amamantando a la vez, junto a la constatación de la ocurrencia de estro luego del parto, aborto o la reabsorción embrionaria son claras evidencias de que este mecanismo está instalado en las hembras de esta especie al igual que en otras dentro del género *Ctenomys* (Malizia y Busch 1991, Rosi et al. 1992). No hay registros de una tercera camada en el año, lo que mantendría a las hembras activas reproductivamente todo el año como ocurre en *C. australis* (Zenuto y Busch 1998) sino que el reinicio de la actividad reproductiva se produce en mayo, cuando aun en bajos porcentajes se capturan hembras en algunas de las etapas del ciclo estral y por lo tanto saliendo de la etapa de quiescencia en que se encuentra la totalidad de las hembras entre enero y abril.

Si una hembra se aparea a principios de junio, completaría su gestación hacia mediados de setiembre, y fecundada nuevamente en un estro post-parto, a fines de diciembre tendría la segunda camada. La estación reproductiva es extensa, desde mayo a diciembre, con las hembras reproductivamente inactivas desde enero hasta abril, aunque algunas en enero podrían estar amamantando la segunda camada. En *C. talarum*, la estación reproductiva es de 9 meses (Busch et al. 1989) posibilitando que algunas hembras críen durante la misma estación de su nacimiento (Malizia y Busch 1991), mientras que en *C. mendocinus*, con una estación más corta, los juveniles alcanzan la madurez reproductiva en la siguiente temporada (Rosi et al. 1992). En esta especie, basados en datos de campo y laboratorio, podemos establecer que las hembras alcanzan la madurez sexual entre los 6 y 8 meses dependiendo del momento de su nacimiento, seguramente antes que los machos según consta para otras especies del género (Malizia y Busch 1991, Zenuto y Busch 1998).

Los períodos gestacionales largos y la pubertad tardía, son factores claves que impiden a los roedores subterráneos una expansión poblacional rápida (Busch et al. 2000). Los tiempos de gestación de los ctenómidos son los más altos reportados entre los roedores subterráneos. Estimamos entre 100-105 días el período de gestación en esta especie, mientras se han establecido 120 y 95 días para *C. opimus* (Pearson 1959) y *C. mendocinus* (Busch et al. 2000) respectivamente. Los batiérgidos se ubican entre los 50 y 100 días según la especie (Burda 1989, Brett 1991), y los geómidos son los de menor tiempo gestacional reportado con valores menores a los 20 días (Schramm 1961, Andersen 1978). A pesar del prolongado período de gestación, las crías de tucu-tucu se consideran semialtriciales: la cobertura de pelo, aunque completa es escasa, la capacidad de termorregulación es pobre, y aunque ingieren alimentos sólidos a la semana, lactan al

menos durante un mes (Zenuto et al. 2002, Cutrera et al. 2003). Nuestras observaciones de crías nacidas en cautiverio nos indican que aún luego de que se independizan nutricionalmente de la leche materna, permanecen junto a su madre al menos por un período que triplica el de lactancia. Este reporte, conjuntamente con los datos de campo en que crías de tres meses de edad aproximadamente, se han capturado junto a individuos adultos, permite afirmar que como mínimo durante ese período los juveniles no establecen su propio sistema de galerías.

Entre los roedores caviomorfos, en *Cavia magna* y *Cavia aperea*, aunque poseen tiempos gestacionales más cortos (53 -77 días), los neonatos son precoces con cobertura de pelaje completa, ojos abiertos el primer día e ingestión de alimentos sólidos a los pocos días de nacer (Kunkele y Trillmich 1997). Los tiempos gestacionales y el grado de desarrollo de las crías al nacer son relativamente constantes dentro del género *Ctenomys* (Busch et al. 2000); no así el número y tamaño de camada y la duración de la estación reproductiva. Seguramente los primeros están menos influenciados por las condiciones ecológicas y se mantienen conservados en la historia filogenético del grupo. El tamaño de camada considerado a partir del número de embriones es menor que el reportado en *C. talarum* (Malizia y Busch 1991) y *C mendocinus* (Rosi et al. 2002)

El período relativamente extenso durante el cual las hembras inician su actividad reproductiva, que denominamos período de apareamiento, y la consecuente asincronía entre las hembras con respecto a la receptividad sexual, genera un alto potencial poligínico (Emlen y Oring 1977), posibilitando que un solo macho copule a varias hembras en sucesión. Desde el punto de vista del éxito de las hembras, confiere dos ventajas importantes: la posibilidad, frente a la eventualidad de un aborto o de reabsorción embrionaria, de iniciar nuevamente un ciclo de estro, y la capacidad de duplicar su tasa reproductiva con una camada adicional, producto de un estro post-parto. Es de destacar el corto lapso de tiempo que transcurre entre un aborto y la manifestación del estro en una hembra como indicativo de la importancia de mantener la preñez, y por lo tanto el parto y desarrollo de las crías, dentro de determinadas condiciones.

Las capturas múltiples de adultos y crías son frecuentes en Río Negro entre octubre y diciembre, lo cual coincide con los datos de otras especies de vida solitaria, ya que en ese período las madres comparten la cueva con sus crías. Sin embargo, el análisis de parentesco con microsatélites de algunos de estos grupos capturados en la misma boca de una cueva, e inclusive en algunos casos juntos en la misma trampa de caja, arrojan

resultados novedosos. En estos grupos, el grado de parentesco entre los juveniles e inclusive entre los juveniles y los adultos es muy variable, sin corresponder al patrón esperado de cueva compartida entre madres e hijos (Parada 2003, Lessa et al. 2005, Marquez 2006). Aun cuando en algunos de los casos las capturas se realizaron con un día de diferencia, y por lo tanto algunos individuos compartiendo la cueva podían ser considerados migrantes, este resultado impone la necesidad de profundizar el estudio de las relaciones de parentesco en estas poblaciones y sus consecuencias sobre la estructuración social de la especie.

Durante una experiencia de selectividad entre crías propias y ajenas se puso a prueba a la hembra lactante cuyo parto se produjo en cautividad. Esta hembra mostró una clara selectividad hacia sus propias crías, resultado que a pesar de provenir de una sola réplica, se aparta de los resultados obtenidos en la misma experiencia con *C. pearsoni*, en que las madres adoptaron crías ajenas (Pereira en prensa). En esta especie solitaria, las hembras no estarían sometidas a presiones en el sentido de establecer mecanismos de reconocimiento, ya que las probabilidades de “confundirse” con las crías de otra hembra serían muy bajas al compartir la cueva exclusivamente con sus hijos. Sin embargo, el contraste de la respuesta exhibida por la hembra de *C. rionegrensis*, conjuntamente con el registro de adultos y juveniles no emparentados compartiendo el sistema de túneles y el solapamiento de las áreas de actividad entre hembras adultas, induce a suponer una fuerte presión de selección en esta especie, a favor del reconocimiento de las crías propias. El gasto energético de la lactancia es alto para las hembras de cualquier mamífero y también para las hembras de tucu-tucu (Antinuchi et al. 2002, Veloso 2002, Zenuto et al. 2002). Muchas hembras lactantes en esta especie están preñadas simultáneamente, lo cual implica aumentar aun más los requerimientos energéticos impuestos por la producción de leche, de tal manera que maximizar la eficacia de la lactancia discriminando a las crías propias de las ajenas, aparece como un carácter ventajoso. En este sentido las capturas de dos machos en la misma cueva, las frecuentes capturas de individuos a distancias menores de 1 m y el solapamiento de las áreas de actividad registrado a través de radiotelemetría, aportan evidencia adicional para cuestionar en esta población, la vida solitaria, territorialidad y xenofobia típicas de la mayoría de las especies del género.

En *C. talarum* (Malizia 1998) y *C. mendocinus* (Dacar et al. 1998, Rosi et al. 2002) los machos son capaces de sostener la actividad reproductiva a lo largo del año. En estos roedores los testículos no descienden a una bolsa escrotal, sino que se mantienen

permanentemente en el canal inguinal, lo que dificulta establecer en los animales vivos el nivel de la actividad reproductiva. A través de la autopsia o experiencias de comportamiento puede conocerse con certeza la estabilidad de la actividad reproductiva de los machos durante todo el año.

### Ciclo estral

La ocurrencia espontánea del estro registrada en diversas circunstancias, genera una serie de interesantes interrogantes. El inicio del estro luego del aborto o la reabsorción embrionaria durante el cautiverio, demuestra que la receptividad sexual puede reestablecerse luego de un evento que recorta la inversión reproductiva, a partir de los mismos mecanismos fisiológicos que desencadenan el estro post-parto (Knobil y Neil 1994). El estrés generado en la captura y el cautiverio dispara en algunas hembras la interrupción de la gestación. La observación de este proceso en una hembra durante su permanencia en una caja ocupada previamente por un macho y en otra luego de un enfrentamiento, establece la necesidad de investigar la incidencia de mecanismos ampliamente conocidos en roedores, a través de los cuales las hembras bloquean la preñez por efecto de las feromonas a través del olor o el contacto directo con un macho (Bruce 1959, Wyatt 2003). En hembras de otras poblaciones de esta especie, durante el enfrentamiento con machos también se observó aborto en dos oportunidades, lo que conduce a afirmar que este proceso al menos en el laboratorio es frecuente. La ocurrencia de este fenómeno en la naturaleza, conduciría a suponer que las hembras luego de la fecundación, tendrían oportunidad de interactuar con otros machos durante el período de gestación, con la consiguiente posibilidad de que actúe la selección sexual postcopulatoria tanto a través de la competencia entre machos por maximizar su éxito reproductivo, como por medio de la elección críptica de las hembras (Eberhard 1996)

Se establecen diferentes patrones reproductivos en base a la ocurrencia espontánea o la necesidad de inducción por medio de estímulos específicos, en tres fases de la función reproductiva: estro o receptividad, ovulación y generación de cuerpo lúteo (Nelson 2000, Touma 2001). La estación reproductiva estaría determinada por claves ambientales como la temperatura y/o el fotoperíodo, estimulando la actividad sexual de las hembras y el comienzo del ciclo estral durante el invierno. La entrada espontánea al estro en hembras en cautiverio sin perturbación aparente ni contacto con machos, es un buen indicador de que durante la estación reproductiva, las hembras que aun no han sido fecundadas

despliegan ciclos estrales, a diferencia de las hembras de *S. ehrenbergi* que sostienen durante períodos prolongados la fase de estro (Shanas et al. 1995). Con respecto a la ovulación, Weir (1974) ha planteado como generalidad para los histricognatos la condición de ovuladores inducidos. Esta condición se correlaciona con la vida solitaria, en el entendido que las hembras liberan sus óvulos frente a la certeza de fecundación de los mismos. En el caso de los tucu-tucus y específicamente para los de Río Negro se reporta la existencia de bulbos y espinas en el pene del macho, que estarían implicados en la estimulación cérvico-vaginal de la hembra durante la cópula (Altuna y Lessa 1985, Lessa y Cook 1989, Balbotin et al. 1996). En los últimos años se ha investigado acerca de la correlación entre la ovulación inducida y el sistema social en diversas especies de vida subterránea, donde *S. ehrenbergi* (Shanas et al. 1995) y *Georychus capensis* (van Sandwyk y Bennett 2005) de vida solitaria son también de ovulación inducida, al igual que en dos subespecies sociales de *Cryptomys hottentotus* (Malherbe et al. 2004, Jackson y Bennett 2005). También en los tucu-tucus solitarios, *C. talarum* (Weir 1974) y *C. pearsoni* (Altuna et al. 1991) se establece la necesidad de la cópula para que la ovulación tenga lugar. El alto porcentaje de tiempo que invierten los machos en la estimulación táctil de la hembra a través del aloaseo principalmente, conjuntamente con las múltiples intromisiones, los empujes pélvicos y la presencia de estructuras córneas en el pene en esta especie, plantean un escenario donde seguramente la ovulación de la hembra sea provocada por la cópula. Esta condición genera la posibilidad en las hembras de sesgar la paternidad de sus crías a través de una liberación selectiva de sus óvulos en función de la calidad de la estimulación recibida durante el cortejo y la cópula (Eberhard 1996). Las experiencias que proveerían la respuesta a esta interrogante son relativamente sencillas: la condición reproductiva se estima a través de la cantidad de progesterona en la orina de la hembra y la incidencia de la cópula en la ovulación se prueba con machos vasectomizados evitando la fecundación (Malherbe et al. 2004, Jackson y Bennett 2005, Snyman et al. 2005, van Sandwyk y Bennett 2005).

La biología reproductiva de una especie está determinada por factores filogenéticos, ecológicos y de historia de vida, vinculados principalmente a las probabilidades de apareamiento, y directamente relacionados, a su vez, a la organización social y las interacciones entre los animales. La alta tolerancia a la presencia de coespecíficos, inclusive del mismo sexo y durante la estación reproductiva, la alta densidad de población, la cercanía entre vecinos, las capturas de animales no emparentados en la misma cueva y el solapamiento de áreas de actividad de individuos adultos, constituyen elementos que cuestionan la vida solitaria y territorialidad extrema generalizadas para la mayoría de las

especies de *Ctenomys*. Reig et al. (1990) mencionan la existencia en la Provincia de Entre Ríos, Argentina, de una población de *C. rionegrensis* de vida social, sin proveer más detalles acerca del grado de socialidad ni la complejidad de las interacciones individuales. De todas maneras, el posible gradiente entre formas de vida solitaria y social, admite la expresión de patrones intermedios de solapamiento espacial en los que necesariamente los animales deben compartir el sistema de túneles (Lacey 2000). Profundizar la caracterización del comportamiento social implica conocer mejor la distribución espacial, la biología reproductiva y la demografía de las poblaciones en estudio

---

## CAPÍTULO III

### Comportamiento sexual: cortejo y cópula

---

#### ANTECEDENTES

---

El comportamiento sexual se considera relevante desde el punto de vista evolutivo debido a que las fuerzas generadoras de cambios en los patrones de conducta, especialmente los relacionados al sistema de señales involucrado en el apareamiento, juegan un papel destacado tanto en el origen como en el mantenimiento de las especies como entidades discretas (Butlin y Ritchie 1994). En el concepto de especie basado en el reconocimiento, Paterson (1985) se centra en los mecanismos intraespecíficos que facilitan la reproducción dentro de las poblaciones. En este sentido, el cortejo integra los elementos de la conducta involucrados en la formación de la pareja (Heymer 1982), y constituye una forma de comunicación cuyas principales funciones son la sincronización, estimulación y orientación espacial de la pareja, así como la inhibición de comportamientos agresivos y la evaluación de la calidad del otro individuo (Krebs y Davies 1984).

Los roedores subterráneos realizan la gran mayoría de sus actividades en las galerías bajo tierra, lo cual genera un importante desafío a los investigadores del comportamiento. Pero el estudio de las pautas conductuales necesita obviamente, de la observación de animales vivos y en buenas condiciones de mantenimiento que permitan el despliegue del comportamiento sin alteraciones. En la experimentación con este tipo de animales, se genera un compromiso entre la estandarización de los ensayos, la provisión de condiciones apropiadas para los animales, y la posibilidad de observación y registro imprescindibles para caracterizar el comportamiento.

Un amplio marco de referencia está planteado en torno al comportamiento sexual en roedores subterráneos, integrado por análisis comparativos entre los roedores histricognatos (Kleiman 1974), descripciones de cortejo y cópula en geómidos (Schramm 1961, Andersen 1978), en *Cryptomys* (Hickman 1982) y en *Spalax ehrenberghi* (Nevo 1969). Además, se ha realizado una descripción cualitativa de la conducta sexual en *Ctenomys talarum* (Zenuto et al. 2002) y *C. mendocinus* (Camin 1999) que complementan en buena medida los datos de la biología reproductiva de estas especies (Rosi et al. 2002, Malizia y Busch 1991, Zenuto et al. 1999).

Dentro de las especies de Uruguay, el análisis cuantitativo y cualitativo del cortejo, en base a la descripción y secuenciación de unidades comportamentales en una población del complejo *C. pearsoni* (Tassino 1992), se considera un antecedente relevante, principalmente desde el punto de vista metodológico. Debido a que el comportamiento constituye un flujo continuo de movimientos y sucesos, para poder cuantificarlo debe dividírsele en unidades discretas o categorías, definidas de manera clara, exhaustiva y sin ambigüedad (Slater 1973, Lehner 1996, Martin y Bateson 1991). Contar en este trabajo con la descripción de las unidades y el análisis secuencial de las mismas, permitió establecer una buena base comparativa.

Los diversos patrones comportamentales vinculados a la cópula, están relacionados con factores como la fisiología reproductiva, las características morfológicas, las variables ecológicas y la organización social (Dewsbury 1972, Stockey y Preston 2004). En general se establece que tanto el cortejo propiamente dicho como las pautas copulatorias se caracterizan por ser conductas estables, de poco cambio y altamente estereotipadas dentro de la especie (Yahner 1978). Sobre estas premisas, Dewsbury (1972) establece una clasificación de los patrones copulatorios de los mamíferos, en base a cuatro atributos: enganche, empujes intravaginales, múltiples intromisiones y múltiples eyaculaciones, con el objetivo de entender el significado adaptativo de los mismos y los procesos que subyacen a la evolución del comportamiento y a los sistemas reproductivos. Considera además que debido a su alta estereotipia puede ser estudiado en el laboratorio sin que se altere cualitativamente (Dewsbury 1975).

En muchos taxones diferentes se ha descubierto, sin embargo, variación de comportamientos, morfología, fisiología e historias de vida, inter e intrapoblaciones, inclusive entre individuos del mismo sexo (Gross 1996, Magurran 1998, Hoffman y Blouin 2000, Kingston et al. 2003, Shuster y Wade 2003, Basolo 2004). Una importante fuerza evolutiva capaz de generar variación individual es derivada de la interacción social (West-Eberhard 1986, 2003), aunque la evolución y los mecanismos de control involucrados en esos fenotipos alternativos aún son desconocidos en la mayoría de los casos (Gross 1996). Se ha postulado a la selección sexual (Magurran 1998) y a la selección natural (Kingston et al. 2003) como responsables del establecimiento y mantenimiento de estos polimorfismos. Por otro lado, las variaciones en el color del pelaje en algunas especies de roedores, son producidas por mutaciones en el gen *agutí*, modificando el patrón de coloración ancestral en los mamíferos (Caro 2000) y generando entre otras, las formas melánicas (Manne et al. 1995). Se han reportado importantes diferencias en patrones

comportamentales, determinados por efectos pleiotrópicos de este gen sobre el metabolismo, para *Rattus norvegicus* y *Peromyscus maniculatus* (Hayssen 1997, Hayssen et al. 2002).

En el marco de nuestra hipótesis de trabajo, de que los pelajes agutí y melánico del tucutucu de Río Negro, constituyen “fenotipos alternativos” en el sentido de West-Eberhard (1986, 2003) nos interesó caracterizar los patrones de cortejo y cópula de cada una de las variantes cromáticas de esta especie. Las diferencias en la expresión de estas pautas comportamentales podrían vincularse con apareamientos selectivos en poblaciones polimórficas y por lo tanto incidir de algún modo en la fijación y mantenimiento del melanismo en la especie. En este contexto nos planteamos la caracterización cualitativa y cuantitativa del comportamiento sexual de *C. rionegrensis* así como la relación de los patrones comportamentales con los hábitos subterráneos y su sistema social. Estimamos la incidencia de los diferentes canales comunicativos implicados en el cortejo en donde la condición de ovuladores inducidos propuesta para las hembras del género (Weir 1974) sugiere que la cópula posee una importante función de estimulación y sincronización de la respuesta sexual.

## MÉTODOS

---

Se colectaron ejemplares de *C. rionegrensis* en las localidades Las Cañas (33°11,25 S, 58°21,21 W) y Los Arrayanes (33°13,98 S, 58°01,47' W) que corresponden a poblaciones monomórficas para el color del pelaje melánico y agutí respectivamente, ambas en el Departamento de Río Negro, Uruguay. Durante la estación que corresponde a los apareamientos en esta especie, se realizaron dos campañas de colecta en agosto 2001 y julio 2002 en las cuales se capturaron 92 individuos adultos 45 melánicos y 47 agutís (Tabla III-I). En todos los casos se utilizaron trampas de captura viva (de cepo Oneida Victor N° 0 y de caja) colocadas en el interior de las galerías subterráneas donde la presencia de montículos de sustrato húmedo indicara actividad excavatoria reciente.

**Tabla III-I.** Individuos capturados durante la estación de apareamiento, en dos años consecutivos en las localidades de Los Arrayanes y Las Cañas, poblaciones agutí y melánica respectivamente

Año	Agutí		Melánico	
	hembras	machos	hembras	machos
2001	16	8	10	6
2002	16	7	19	10
total	32	15	29	16

De cada uno de los animales se registró sexo y peso corporal (balanza Avinet 300 x 2 g), datos ingresados al catálogo del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias. Desde el lugar de captura hasta un “laboratorio de campo” a 3 km de la población melánica y a 35 km de la agutí, los animales fueron trasladados en jaulas de alambre de 32x15x15 cm con abundante pasto fresco. Para el mantenimiento en cautiverio se los alojó en terrarios de plásticos individuales de 38x30x32 cm con sustrato de arena y rejilla metálica a modo de tapa y fueron alimentados con gramíneas, zanahorias y manzanas *ad libitum*. Se consideró un período de 48 h de aclimatación a las condiciones de cautiverio, luego del cual se realizaron enfrentamientos macho-hembra ente individuos de la misma población, en un terrario neutral de paredes de vidrio de 63x20x33 cm con sustrato de arena. Se obtuvieron registros en videograbaciones de 24 enfrentamientos entre individuos melánicos y 21 entre agutí, en donde la pareja se conformó al azar. Los individuos que copularon se excluyeron de las posteriores experiencias.

El registro se inició al retirar la rejilla metálica que mantenía separados a los individuos en dos compartimentos iguales dentro del terrario neutral, y finalizó cuando por lo menos un integrante de la pareja se mantuvo en quietud al menos 3 min (criterio de saciedad), aunque para el análisis se consideró solamente el primer minuto de este comportamiento. Luego de cada experiencia, se renovó el sustrato y las paredes del terrario fueron lavadas con agua y detergente, para eliminar posibles rastros de olor que pudieran influir en el próximo encuentro.

Se marcaron los individuos por el corte de la falange de un dedo de una de las patas posteriores, según un código de identificación y se liberaron en el lugar de captura luego de un tiempo máximo de cautividad de 7 días. El tejido de estas marcas fue conservado en alcohol 95% para posteriores análisis genético-moleculares. Los animales muertos en

cautiverio fueron procesados según los requisitos necesarios para el ingreso a la colección y se conservan en el Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias.

A partir de las videograbaciones se analizó el desarrollo de los enfrentamientos conformándose dos grupos: el primero constituido por 6 parejas, 3 agutí y 3 melánicas, que revelaron comportamiento copulatorio, y el segundo integrado por 39 parejas, 18 agutí y 21 melánicas, en que no ocurrió cópula. En la totalidad de los registros, mediante observación *ad libitum* (Altman 1974, Martín y Bateson 1991) se identificaron las unidades de comportamiento ya descritas para el cariomorfo Solís de *C. pearsoni*, así como se definieron y describieron nuevas categorías. Se realizó la secuenciación de las unidades comportamentales en los enfrentamientos del primer grupo para cada uno de los individuos, utilizando planillas de registro continuo (Slater 1975, Martín y Bateson 1991), a partir de las que se obtuvieron la frecuencia de aparición y la duración de cada una de las categorías. Se calcularon la frecuencia relativa y el porcentaje del tiempo para todas las unidades. Para los machos además, se consideraron las latencias de intento de monta y de intromisión. Para cada una de las parejas se registró la frecuencia y duración de los períodos intercopulatorios y copulatorios, de las cópulas observadas y el tiempo total del enfrentamiento.

Se calcularon los estadísticos descriptivos básicos para cada variable considerada. La comparación de las frecuencias y duración de cada unidad entre machos y hembras, entre períodos dentro del enfrentamiento, así como en la duración de las cópulas entre parejas, se efectuó con la Prueba de Mann-Whitney. Fue posible reconocer patrones comportamentales y construir diagramas de flujo entre unidades para cada sexo, donde se representan las transiciones más frecuentes, a partir de matrices de transición entre las unidades de cada individuo. En los ensayos del segundo grupo se registró la latencia del intento de monta y la duración total del enfrentamiento. La comparación de los valores de estas variables entre las parejas de los dos pelajes, se utilizó el estadístico Mann-Whitney-Wilcoxon para 2 muestras (Sokal y Rohlf 1994).

Los sonidos provenientes de las vocalizaciones de los individuos durante los enfrentamientos fueron tomados con un micrófono Uher M518A a una distancia de 15 cm. El registro se efectuó con un grabador de cinta Uher 4200 Report Monitor y el análisis con un fonógrafo Uniscan II (Modelo 4600, Multigon Industries).

## RESULTADOS

---

La amplia mayoría de los 45 enfrentamientos realizados en las dos estaciones de apareamiento (84 %), se inició con el despliegue de comportamientos agresivos de ambos miembros de la pareja. En menor proporción (42%) los machos realizaron intentos por aparearse, de los cuales un tercio logró copular a las hembras (13%), mientras en 9% de los encuentros no se registró interacción entre los individuos (Tabla III-II).

Con este resultado, se conformaron dos grupos en base a la ocurrencia o no de cópula, que fueron analizados independientemente:

grupo 1: integrado por 3 parejas agutí y 3 melánicas en los que se registró comportamiento de cortejo y cópula completo

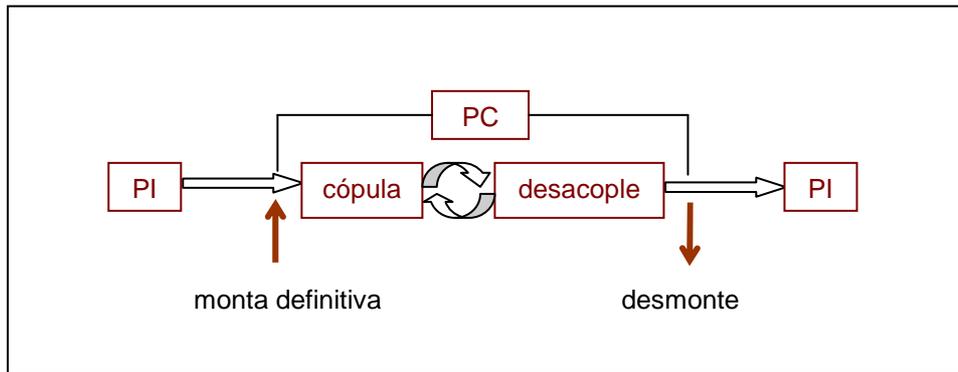
grupo 2 : integrado por 21 parejas agutí y 18 melánicas en las que no ocurrió comportamiento copulatorio.

**Tabla III-II.** Resultado de los encuentros entre parejas homocromáticas en dos estaciones de apareamiento sucesivas (agosto 2001 y julio 2002). Entre paréntesis se indica el número absoluto de enfrentamientos para cada categoría.

Agutí- Los Arrayanes			
	sin agresión	presencia de agresión	total
sin intento de monta	4,76% (1)	33,3% (7)	38,1% (8)
con intento de monta	4,76% (1)	42,86% (9)	47,6% (10)
cópula	4,76% (1)	9,5% (2)	14,3 % (3)
total	14,3 % (3)	85,7% (18)	<b>n=21</b>
Melánicos- Las Cañas			
	sin agresión	presencia de agresión	total
sin intento de monta	12,5% (3)	37,5% (9)	50% (12)
con intento de monta	4,17% (1)	33,3% (8)	37,5% (9)
cópula	0	12,5% (3)	12,5% (3)
total	16,67% (4)	83,33% (20)	<b>n=24</b>

### Patrón general del comportamiento sexual

De la observación de las parejas del grupo 1 se desprendió que el comportamiento sexual de *C. rionegrensis* se organiza en una serie de períodos intercopulatorios (PI) alternados con períodos copulatorios (PC) (Fig. III-1)



**Figura III-1.** Organización general del comportamiento sexual (PI-período intercopulatorio, PC-período copulatorio)

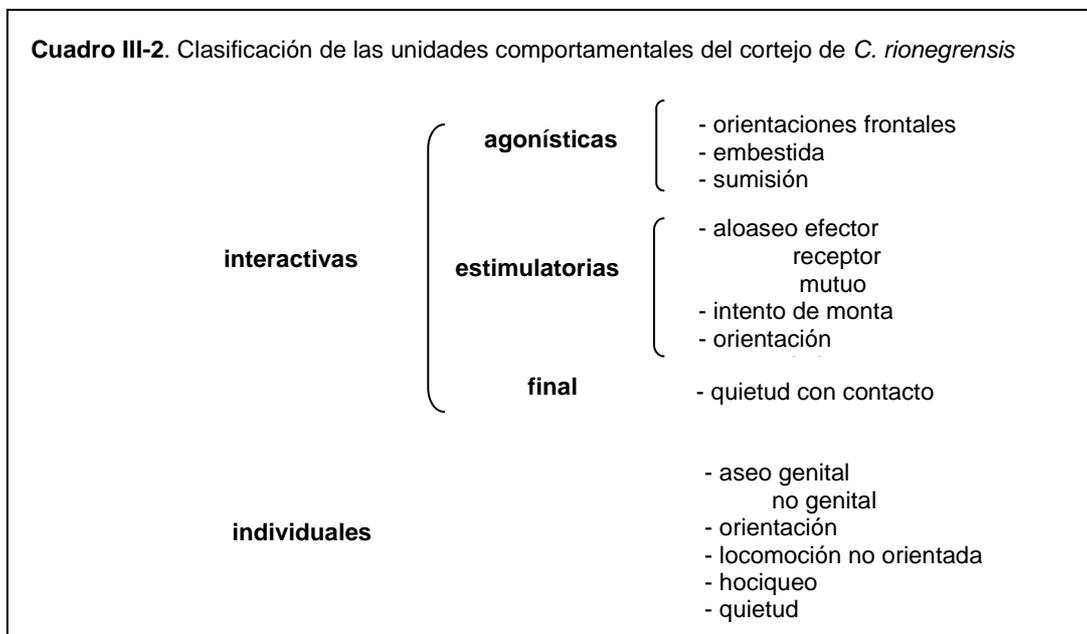
Tanto para el período que transcurre desde el inicio del enfrentamiento hasta la primera cópula (PI inicial) como para el que ocurre a partir de la última cópula hasta el final del encuentro (PI final), la denominación de intercopulatorio no es exacta ya que no intercalan sino que uno antecede y el otro sigue a un período copulatorio. De todas maneras y bajo esta salvedad, se mantuvo la designación para permitir una mejor comparación. Los PI constan básicamente de interacciones vinculadas a la estimulación y orientación de la pareja (Cuadro III-1)

**Cuadro III-1.** Descripción de unidades de comportamiento de cortejo en *C rionegrensis*.

(•) Unidades previamente descritas para *C. pearsoni* (Tassino, 1992) (\*) Nuevas unidades.

- **Aloseo efector (Alle):** aseo ritualizado con miembros anteriores e incisivos que un miembro de la pareja realiza sobre el otro.
- **Aloseo receptor (Allr):** aseo ritualizado que un miembro de la pareja recibe del otro en forma pasiva.
- **Aloseo mutuo (Allm):** ambos individuos realizan aseo ritualizado en forma activa hacia el otro simultáneamente.
- **Aseo genital (GG):** autoaseo genital, utilizando labios, lengua y miembros anteriores.
- **Aseo no genital (GNG):** autoaseo de zonas no genitales, empleando incisivos, lengua, miembros anteriores y posteriores.
- **Locomoción no orientada (LNO):** es una unidad compuesta donde se reúnen todos los movimientos del animal dirigidos al reconocimiento espacial o a la mera locomoción dentro del terrario.
- **Orientación (O):** todo movimiento de un individuo dirigido hacia el otro.
- **Orientación frontal (Of):** ambos individuos enfrentan sus bocas semiabiertas mostrando los incisivos con su cabeza en posición oblicua.
- **Orientación naso-genital (ONG):** uno de los individuos dirige su hocico hacia la zona anogenital del otro.
- **Quietud (Q):** el individuo se queda inmóvil con el cuerpo curvado en forma de ovillo.
- **Intento de monta (IM):** el macho procura la posición copulatoria con o sin movimientos pélvicos sin lograr la intromisión. Durante el transcurso de esta unidad, se considera a la hembra como receptora de allogrooming (Allr).
- \* **Orientación frontal inicial (Ofi):** orientación frontal de mayor amplitud e intensidad con incorporación de movimientos rápidos de avance y retroceso.
- \* **Embestida (E):** la hembra se orienta agresivamente hacia el macho
- \* **Sumisión (S):** el macho gira lateralmente y expone el cuello evitando la agresión de la hembra.
- \* **Hociqueo (H):** rápidos movimientos anteroposteriores de la cabeza frotando el hocico contra el sustrato.
- \* **Quietud con contacto (Qc):** quietud prolongada donde el macho, apoyado con sus miembros anteriores, permanece sobre la hembra en dirección perpendicular.

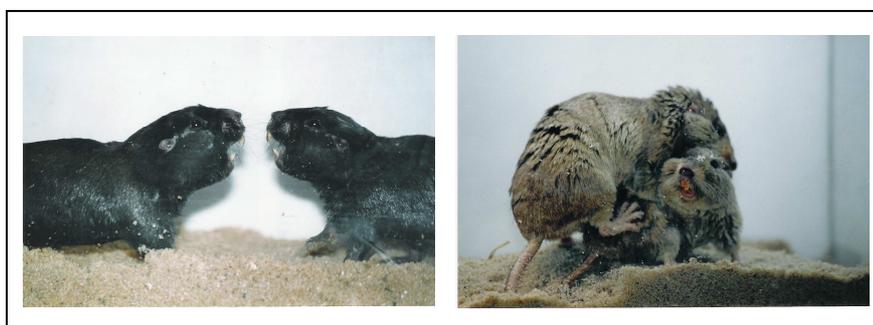
Las unidades comportamentales que constituyen dichos períodos, se clasificaron en interactivas o individuales dependiendo si involucran o no al otro miembro de la pareja. A su vez, dentro de las primeras se separaron las unidades vinculadas a la estimulación de las típicamente agonísticas. Se identificó también una unidad que marca el final del cortejo (Cuadro III-2)



Los períodos copulatorios se inician con la monta definitiva del macho sobre el dorso de la hembra y finalizan con el desmonte (ambos considerados eventos de transición entre los períodos intercopulatorio y copulatorio), pudiendo constar de más de una cópula, espaciadas por desacoples accidentales o cortos lapsos de aloaseo (Fig. III-1)

Los enfrentamientos comienzan con ambos individuos orientados frontalmente con respecto al otro, con la cabeza levantada y la boca semiabierta mostrando los incisivos (Fig. III-2). Esta postura agresiva se acompaña de movimientos de avance y retroceso, categoría que se distingue como Orientación frontal inicial. Frecuentemente, luego de este primer contacto, el macho asume posturas de sumisión, exponiendo hacia la hembra, zonas vulnerables como el cuello. Estas conductas de apaciguamiento de la agresividad, habilitan la aparición de los siguientes comportamientos, vinculados principalmente a la estimulación táctil. En casos excepcionales no se observan posturas agresivas iniciales y las conductas estimulatorias aparecen de inmediato. Alternando con unidades de estimulación como el aloaseo, y agonísticas como embestida y orientación frontal, ocurren

pausas en que los individuos realizan comportamientos exploratorios (locomoción no orientada), permanecen en quietud o se autoasean (área genital y no genital). Luego de un período de tiempo que varía entre los diferentes individuos (latencia de intento de monta mínimo 21,7 s, máximo 112,3 s), el macho intenta copular. Las hembras receptivas al apareamiento, realizan un movimiento de la cola hacia el costado exponiendo la zona anogenital, permitiendo de esta manera la intromisión del pene del macho. Si el macho logra la intromisión, la unidad se denomina monta definitiva (MD), evento que marca el inicio de un período copulatorio. Con frecuencia, principalmente el macho, realiza autoaseo genital luego de la cópula o de un intento de monta prolongado.



**Figura III- 2.** Categorías comportamentales agresivas (orientación frontal, izquierda) y estimulatorias (aloaseo efector, derecha)

El número de períodos copulatorios registrado en los enfrentamientos realizados fue altamente variable, entre un mínimo de 1 y un máximo de 11. Son de corta duración, presentan un rango entre 3,5 y 96,5 s ( $36,68 \pm 28,03$  s), donde los desacoples accidentales así como el desmonte definitivo son producidos generalmente por movimientos de la hembra. La cópula involucra sucesivas series de intromisiones con rápidos movimientos pélvicos de aproximadamente 10/s, alternadas con intromisiones sin movimiento, de mayor profundidad y duración (aproximadamente 1 s), denominadas intromisiones prolongadas, que se homologan a las intromisiones eyaculatorias descritas por Bignami y Beach (1968) para *Chinchilla lanigera* (Altuna et al. 1991). El número de intromisiones prolongadas que ocurren en cada cópula varía entre 1 y 24, pero pueden estar ausentes, principalmente en las primeras cópulas de cada enfrentamiento.

Durante los encuentros analizados, así como en la mayoría de los enfrentamientos, se identificaron vocalizaciones propias del contexto sexual. Pasadas las interacciones agresivas que caracterizan el comienzo del enfrentamiento, el macho emite vocalizaciones

similares a un ronroneo en forma sostenida durante el encuentro, mientras que la hembra produce sonidos agudos de corta duración en etapas más avanzadas del cortejo. El análisis sonográfico de estas vocalizaciones determinó que las señales de los machos son de corta duración (0,012 s), ancho de banda amplio (2040 Hz) y, aunque su relación con las unidades comportamentales en las que ocurre es variable, se asocia principalmente con la orientación hacia la hembra.

Se identificaron cinco notas diferentes en las vocalizaciones de las hembras, nominadas como Ca, Cb, Cc, Cd y Cf. Son señales moduladas, de frecuencia elevada y sin patrón temporal definido (Tabla III-III)

**Tabla III-III.** Caracterización física de las señales acústicas emitidas por las hembras durante el cortejo y la cópula

Vocalización	Frecuencia principal (Hz)	Ancho de banda (Hz)	Duración (s)	Nº de notas
Ca	617.78 ± 146.63	227.78 ± 92.83	0.58 ± 0.22	18
Cb	571.43 ± 116.81	1200 ± 565.68	0.19 ± 0.14	14
Cc	1042.08 ± 504.68	1380 ± 367.69	0.28 ± 0.15	25
Cd	576.0 ± 134.46	1616 ± 530.36	8.26 ± 3.06	5
Cf	1038.11 ± 553.25	1575 ± 473.74	0.54 ± 0.19	20
total	769.08 ± 248.06	1999.76 ± 568.18	0.97 ± 3.52	82

La señal Cf es la más frecuente y compleja, encontrándose asociada principalmente a la recepción de estimulación táctil (43%), inclusive durante la cópula ( $X^2= 26,5$ ,  $gl=12$ ,  $p\leq 0,01$ , Tabla III-IV)

**Tabla III-IV** Las señales acústicas emitidas por las hembras están significativamente asociadas a unidades comportamentales ( $X^2= 26,5$ ,  $gl=12$ ,  $p\leq 0,01$ ) Allr- aloaseo receptor, E- embestida, O- orientación, LNO- locomoción no orientada

Tipo de señal	Nº de señales / unidad de comportamiento				Total
	Allr	E	O	LNO	
Ca	3	2	12	5	22
Cb	2	0	6	7	15
Cc	5	0	2	9	16
Cd	0	2	2	2	6
Cf	13	2	7	8	30

La duración total del enfrentamiento es altamente variable desde 16 min a 2 h, y finaliza con los animales en quietud con o sin contacto entre ellos. La latencia de intromisión, período que va desde el inicio del encuentro hasta lograr la cópula, oscila entre 110 y 1123,6 s ( $427,52 \pm 364,18$  s). Una alta proporción del tiempo es dedicada a los períodos intercopulatorios en comparación con los copulatorios, con valores entre 89 y 98% de la totalidad del enfrentamiento

### Análisis de la secuenciación del comportamiento

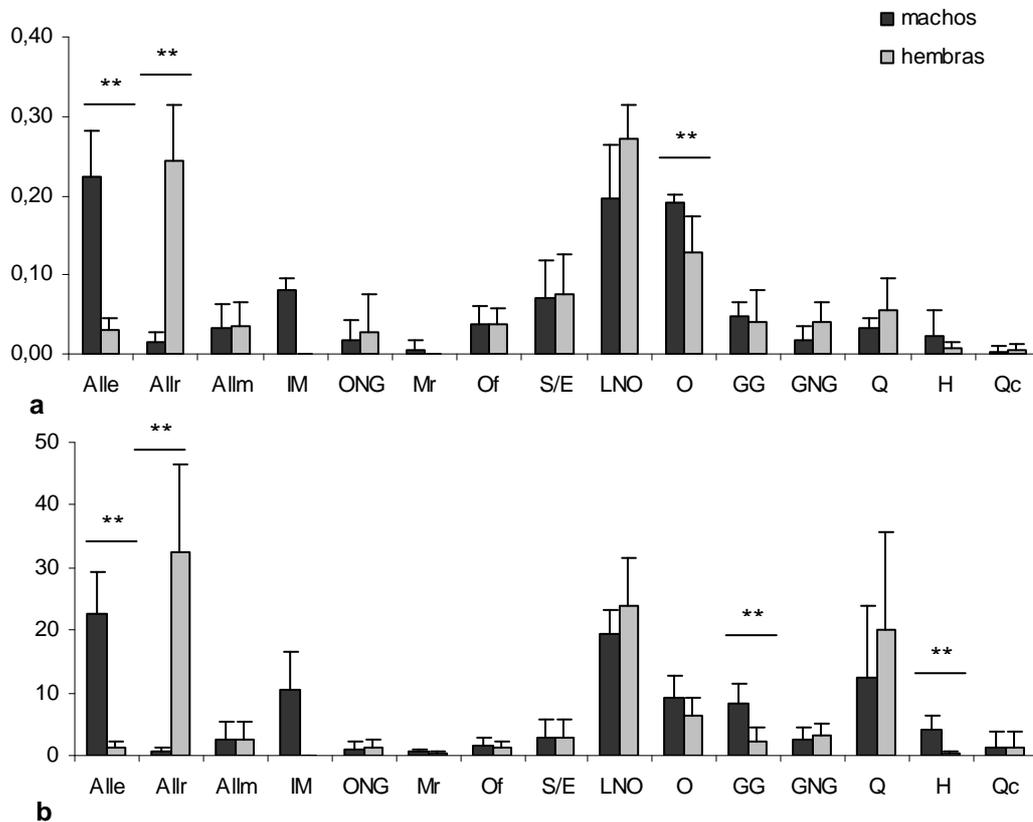
En todos los individuos se observa un alto porcentaje de tiempo y frecuencia destinado a la estimulación táctil, así como a las unidades de orientación y exploración del terrario (Tabla III-V, Fig. III-3)

**Tabla III-V.** Frecuencias y tiempos relativos de las unidades comportamentales en ambos miembros de la pareja en los enfrentamientos con cópula (n=6). Se indican la significación estadística de las diferencias entre sexos en cada una de las unidades ( M-W:Prueba de Mann-Whitney , ns: diferencia no significativa,  $p>0,05$ )

Unidades	Frecuencia relativa		M-W	Tiempo (%)		M-W
	machos	hembras		machos	hembras	
Aloaseo efector (Alle)	0,22 ± 0,06	0,03± 0,02	$p \leq 0,01$	22,6 ± 6,6	1,2 ± 0,9	$p \leq 0,01$
Aloaseo receptor (Allr)	0,02 ± 0,01	0,24 ± 0,07	$p \leq 0,01$	0,8 ± 0,6	32,6± 13,8	ns
Aloaseo mutuo (Allm)	0,03 ± 0,03	0,03±0,03	ns	2,6 ± 2,8	2,6± 2,8	ns
Intento de monta (IM)	0,08 ± 0,02	-	-	10,6 ± 6,0	-	-
Orientación nasogenital (ONG)	0,02 ± 0,02	0,03± 0,05	ns	1,0 ± 1,1	1,3± 1,3	ns
Mordida (Mr)	0,01 ± 0,01	0	ns	0,5 ± 0,5	0,3 ± 0,4	ns
Orientación frontal (Of)	0,04 ± 0,02	0,04± 0,02	ns	1,6 ± 1,3	1,4 ± 0,9	ns
Embestida/Sumisión (E/S)	0,07 ± 0,05	0,08± 0,05	ns	2,8 ± 2,9	2,8 ± 2,9	ns
Locomoc. no orientada (LNO)	0,20 ± 0,07	0,27±0,04	ns	19,4 ± 3,9	23,9± 7,6	ns
Orientación (O)	0,19 ± 0,01	0,13±0,04	$p \leq 0,01$	9,4 ± 3,3	6,4± 2,7	ns
Aseo genital (GG)	0,05± 0,02	0,04± 0,04	ns	8,3 ± 3,0	2,1± 2,5	$p \leq 0,01$
Aseo no genital (GNG)	0,02 ± 0,02	0,04±0,02	ns	2,5 ± 2,0	3,3± 2,0	ns
Quietud (Q)	0,03 ± 0,01	0,06± 0,04	ns	12,6 ± 11,4	20,0±15,8	ns
Hociqueo (H)	0,02 ± 0,03	0,01±0,01	ns	4,0 ± 2,4	0,2 ± 0,2	$p \leq 0,01$
Quietud c/contacto (Qc)	0,003 ± 0,007	0,004 ± 0,008	ns	1,3 ± 2,4	1,4±2,5	ns

Algunas unidades, aunque de frecuencia de aparición media son de corta duración y ocupan bajos porcentajes del tiempo total del encuentro. La embestida por parte de la

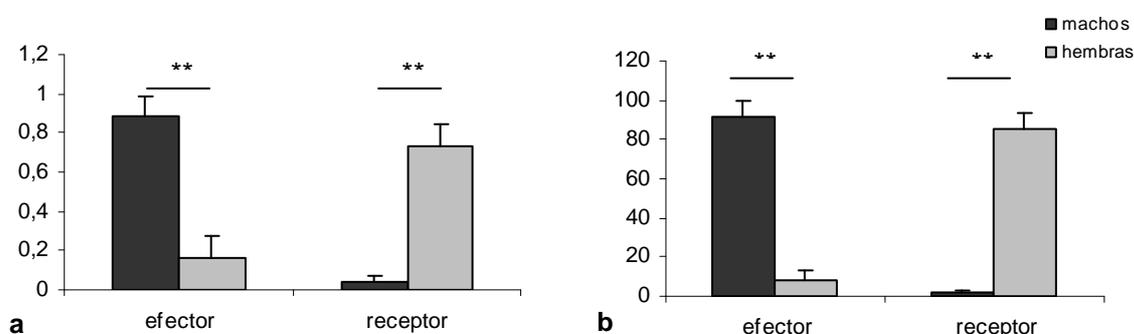
hembra es uno de estos ejemplos, donde el macho responde con posturas de sumisión frente a esta conducta agresiva. La frecuencia relativa media de la unidad aseo genital es similar en ambos sexos, pero los machos dedican más tiempo que las hembras a esta actividad (Prueba Mann-Whitney  $z=2,56$   $p\leq 0,01$ ). En el caso de la quietud son las hembras las que presentan mayores valores tanto de frecuencia como de duración relativa en esta unidad, pero estadísticamente estas diferencias no son significativas. El hociqueo, comportamiento vinculado a la recepción de señales químicas, es de frecuente aparición en los machos, mientras que sólo ocasionalmente se observa en las hembras y el tiempo dedicado a este comportamiento es diferencial entre ambos (Prueba Mann-Whitney,  $z=2,88$ ,  $p\leq 0,01$ ). La búsqueda activa hacia el otro miembro de la pareja es más frecuente en los machos (Prueba U Mann-Whitney  $z=2,56$   $p\leq 0,01$ ) (Fig. III-3).



**Figura III-3.** Frecuencias (a) y tiempos relativos (b) de las unidades comportamentales de ambos miembros de la pareja en la totalidad de los enfrentamientos con cópula (n=6). Se indican las diferencias significativas en la comparación entre sexos según la Prueba Mann-Whitney (\*\*:  $p\leq 0,01$ )

Con respecto a los valores referidos a la estimulación táctil, tanto en lo que se refiere a la frecuencia relativa de aparición de las unidades dentro de esta categoría, como en el

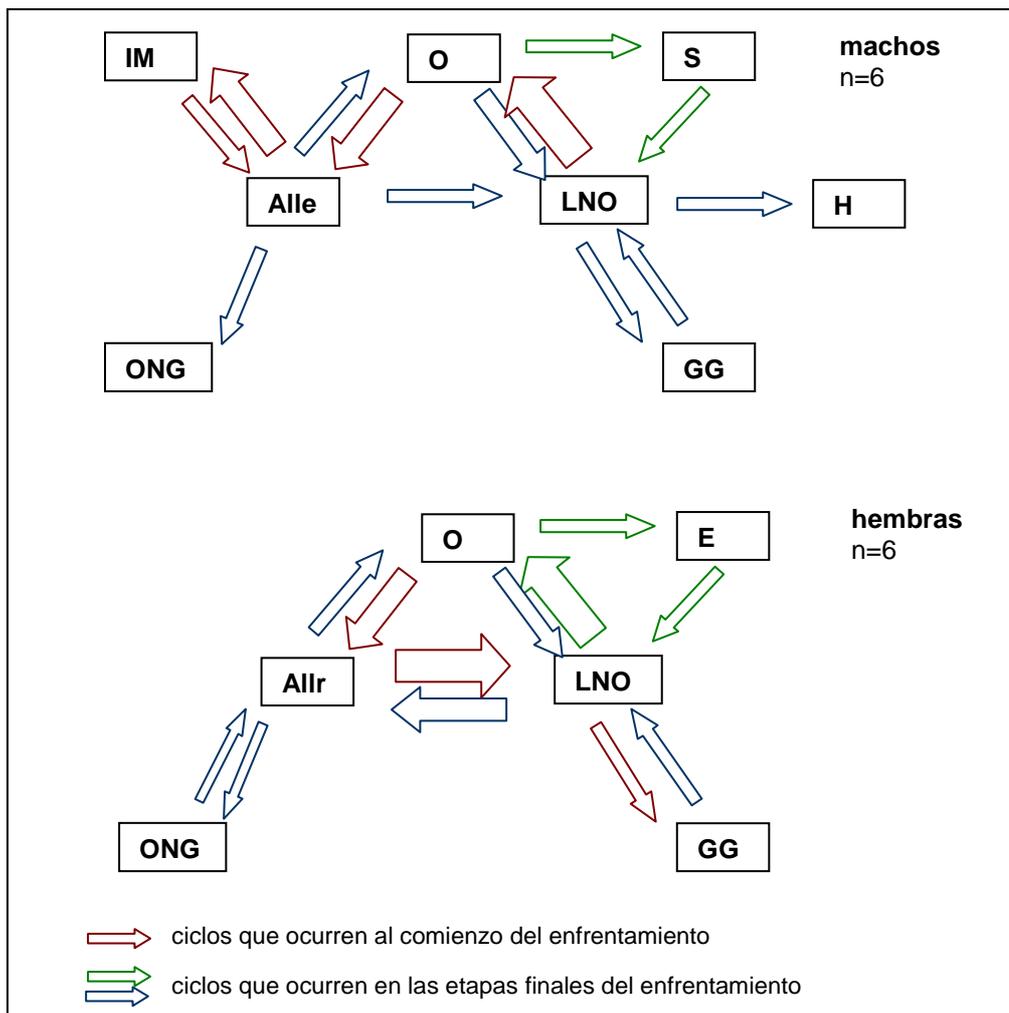
porcentaje de tiempo, aparece un importante dimorfismo sexual, donde los machos juegan un rol predominantemente efector, mientras las hembras actúan como receptoras de la estimulación la mayor parte del tiempo (Prueba U Mann-Whitney  $z=2,88$ ,  $p\leq 0,01$ ) (Figs.III-3 y III-4)



**Figura III-4.** Histograma de frecuencia (a) y tiempo (b) relativos de las unidades de estimulación táctil para machos y hembras como efectores o receptores ( \*\* $p\leq 0,01$ , Prueba de U Mann-Whitney)

En relación al patrón general del comportamiento sexual, excepto los altos niveles de estimulación táctil, la frecuencia de aparición y el tiempo dedicado a las otras categorías son variables entre los diferentes individuos (Fig. III-3).

Sin embargo, el análisis de las secuencias de las unidades comportamentales revela un núcleo de transiciones que se visualiza en diagramas de flujo (Fig. III-5). En los machos la transición más frecuente es el pasaje de LNO a O, seguida por Alle, que deriva principalmente hacia IM. De esta forma se observa un ciclo LNO-O-Alle-IM, que ocurre principalmente en los períodos iniciales y medios del enfrentamiento. Hacia las etapas finales del encuentro, aparecen con mayor frecuencia transiciones desde O a S y de Alle a LNO y luego a GG. A diferencia de las etapas tempranas donde la unidad de salida de LNO es casi exclusivamente O, a medida que avanza el encuentro, las salidas de LNO se reparten entre H, O, GG y Q. También en las hembras las transiciones entre las unidades de comportamiento evidencian ciclos diferentes a lo largo del enfrentamiento: O-Alle- LNO (en algunos individuos seguida de GG) durante las etapas iniciales y LNO-O-E-LNO hacia el final del encuentro. Mientras que la unidad que antecede mayoritariamente a la recepción de estimulación en las hembras (Allr) es la LNO, la orientación en los machos antecede a efectuar aloaseo, lo que sugiere que es el macho quien busca activamente la interacción con la pareja (Fig. III-5)

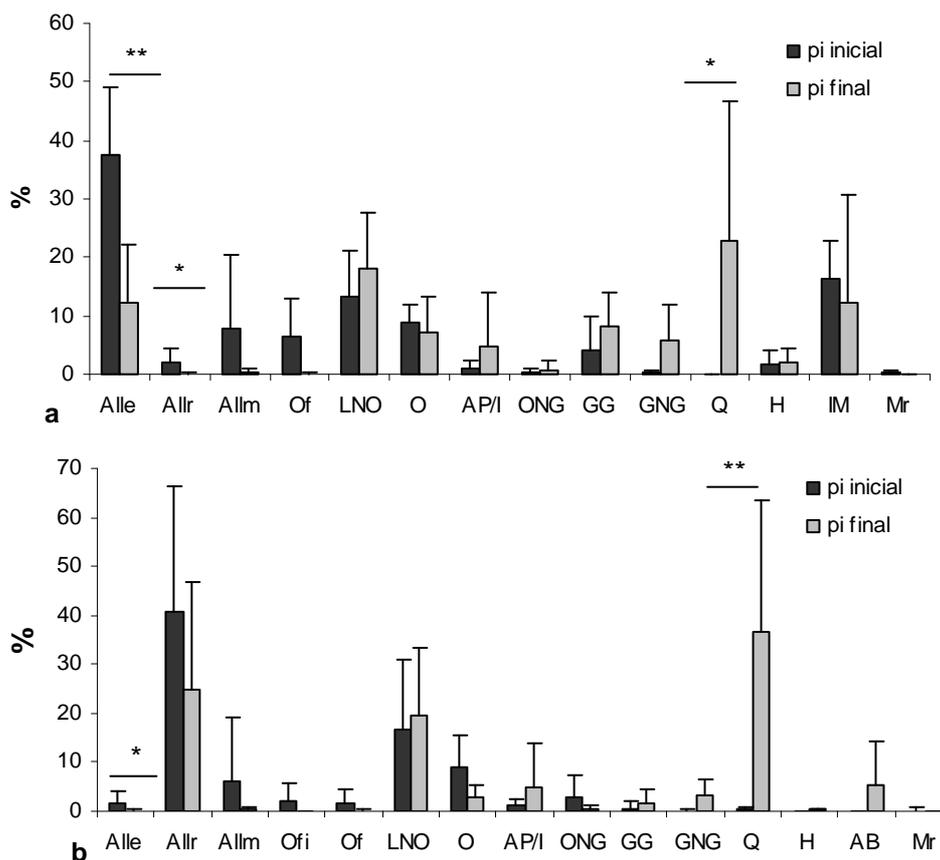


**Figura III-5.** Diagramas de flujo que representan las transiciones más frecuentes entre las unidades. El ancho de las flechas es proporcional a la frecuencia de las transiciones. (Alle-aloaseo efector, Allr-aloaseo receptor, IM-intento de monta, ONG- orientación naso genital, LNO- locomoción no orientada, O-orientación, GG- aseos genital, S- sumisión, E- embestida, H-hociqueo)

### Variación temporal a lo largo del enfrentamiento

Es posible identificar un patrón de variación temporal en el transcurso de todos los enfrentamientos (Fig. III-6), a pesar de la gran variabilidad individual observada en el comportamiento sexual que determina que estas diferencias no siempre adquieran significación estadística. El período inicial se caracteriza por los altos valores de tiempo y frecuencia de las unidades vinculadas a la estimulación táctil, con valores en algunos casos que superan el 50% del tiempo (Prueba de Mann-Whitney, machos Alle  $z=-2,88$   $p\leq 0,01$ , Allr  $z=2,16$ ,  $p\leq 0,05$ ; hembras Alle  $z=2,16$   $p\leq 0,05$ ). También aparecen conductas de

reconocimiento mediante olfateo de la pareja. Las orientaciones frontales son típicas de los períodos iniciales y su aparición decae progresivamente a medida que transcurre el enfrentamiento, hasta desaparecer. Los machos intentan la monta mayor número de veces en las etapas tempranas del enfrentamiento. En estas etapas las unidades vinculadas al autoaseo de los individuos están pobremente representadas, así como la quietud que, cuando aparece en las hembras es de corta duración y en los machos no se observa (Prueba de Mann-Whitney, machos  $z=-2,40$ ,  $p\leq 0,05$ , hembras  $z=-2,88$ ,  $p\leq 0,01$ ) Hacia el final del enfrentamiento las conductas asociadas a la estimulación disminuyen tanto en frecuencia como en tiempo, dando lugar al incremento de unidades en las que los individuos no interaccionan. De esta forma aumenta la frecuencia de aparición de la locomoción no orientada y la quietud ocupa mayor proporción del tiempo. Desaparecen en este momento OF y ONG, mientras que se observan progresivos aumentos de la embestida por parte de la hembra, y las categorías de autoaseo genital y no genital.



**Figura III-6.** Comparación entre los porcentaje de tiempo dedicado a cada unidad comportamental en los períodos intercopulatorios inicial y final en los machos (a) y las hembras (b). (\*  $p\leq 0,05$  \*\*  $p\leq 0,01$ , Prueba Mann-Whitney)

### Comparación entre parejas melánicas y agutí

La comparación de las variables consideradas en las parejas del grupo 1 entre los dos pelajes reveló diferencias importantes. Las parejas agutí presentaron valores más altos que las parejas melánicas en la cantidad de ciclos PI/PC, la duración total del encuentro, el número y la duración de las cópulas, no siendo posible comprobar estadísticamente estas diferencias debido al bajo número muestral (Tabla III-VI)

**Tabla III-VI.** Parámetros considerados en el análisis del comportamiento de cortejo y cópula en parejas de poblaciones monomórficas agutí (Los Arrayanes, n=3) y melánica (Las Cañas, n=3)

	Agutí (n= 3 parejas)		Melánico (n=3 parejas)	
	rango (min - max)	x ± de	rango (min - max)	x ± de
Latencia de Intento de monta (s)	21,7 - 83,7	56,7±31,7	70,2 - 112,3	94,4±21,7
Latencia cópula (s)	214 - 1123,6	602,2±469,2	110 - 391,9	252,8±79,2
Nº periodos intercopulatorios	4 - 11	7,7±3,5	2 - 3	2,3±0,6
Período intercopulatorio inicial (s)	214 - 1123,6	602,2±469,2	110 - 391,9	252,8±141,0
Período intercopulatorio final (s)	268,7 - 923,6	628,2±332,1	447,2 - 803,6	675,5±198,2
Tiempo total (s)	2024,4 - 7233,9	4009,3±2817,4	913,6 - 1215,9	1053,9±152,3
Nº periodos copulatorios	3 - 10	6,7±3,5	1 - 2	1,3±0,6
Duración (s)	3,4 - 96,5	35,7±29,6	9,4 - 58,2	29,5±23,4
Nº de cópulas	3 - 14	8,3±5,5	2	2±0
Duración (s)	3,4 - 79,6	24,7±17,8	4,4 - 17,6	11,7±4,8
Total de enfrentamiento (s)	2239,3 - 7438,6	4263,17±2784	952,5 - 1237,1	1093,4±142,3

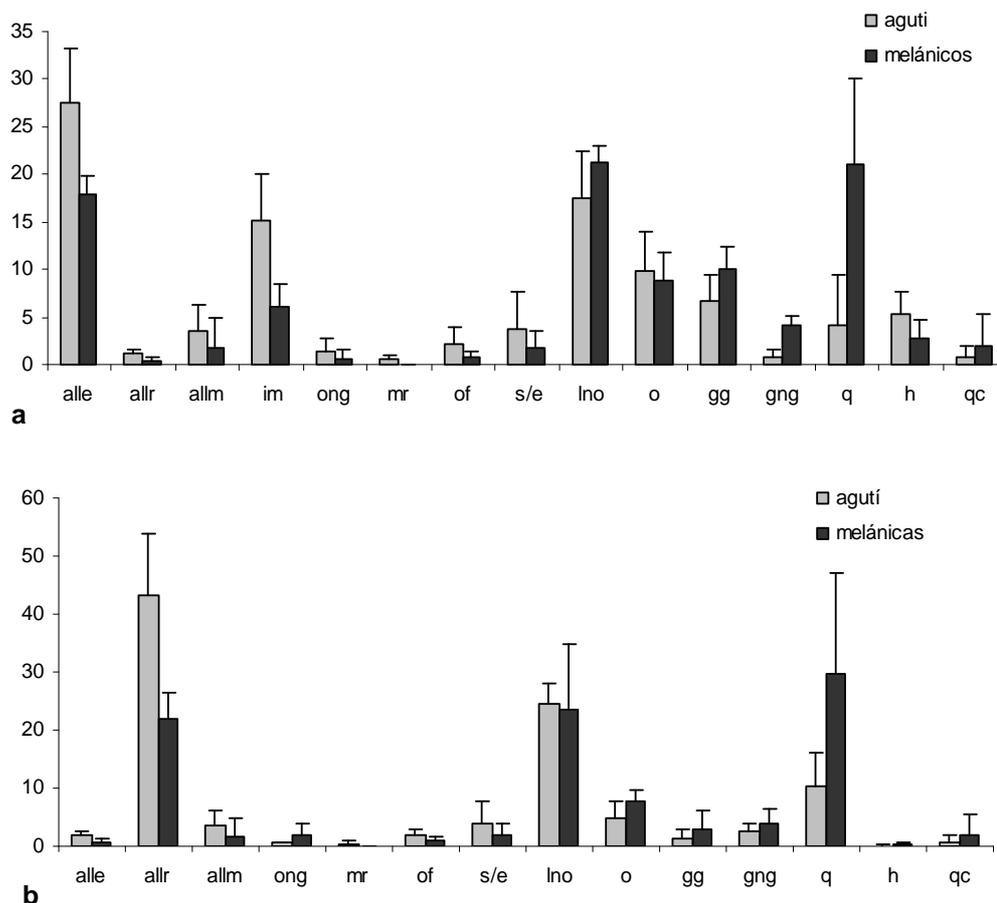
Dentro del grupo 2, 42,86% de los machos de las parejas melánicas (n= 9) y 55,56 % de los machos de las parejas agutí (n= 10) realizaron intentos de copular a la hembra.

La comparación entre pelajes en este grupo (Tabla III-VII) revela diferencias significativas tanto en la duración de los enfrentamientos, como en el valor de la latencia del intento de monta (Prueba Mann-Whitney- Wilcoxon para 2 muestras), diferencian coincidentes con las tendencias observadas dentro del grupo 1 donde las parejas agutí presentan mayores tiempos totales de enfrentamiento y menores valores referidos a la latencia del intento de monta.

**Tabla III-VII** Comparación entre parejas de diferente pelaje en los enfrentamientos sin cópula (\*Prueba Mann-Whitney-Wilcoxon para 2 muestras )

	agutí			melánico			U*	p
	n	rango	x ± de	n	rango	x ± de		
tiempo total (s)	18	477,7 - 3026,5	1322,5 ± 761,0	22	144,7-1775,0	806,0 ± 471,5	-13,74	≤ 0,01
latencia de IM (s)	10	32,6 - 396,0	157,9 ± 115,0	9	137,5 - 676,0	308,6 ± 203,6	-10,04	≤ 0,01

Además de las diferencias en los parámetros mencionados anteriormente en las parejas agutís y melánicas, se registran otras diferencias que surgen de la comparación del análisis secuencial del comportamiento (Fig. III-7). Los machos agutí dedican en promedio, mayor cantidad de tiempo a la estimulación de la pareja que los melánicos, de tal manera que las hembras agutí reciben proporcionalmente el doble de aloaseo que las melánicas. En cambio, los individuos melánicos de ambos sexos permanecen en quietud durante períodos más prolongados. En este sentido, a partir del análisis cuantitativo, las parejas melánicas aparecen desplegando un comportamiento más homogéneo y de menor variabilidad que sus pares agutí.



**Figura III-7.** Comportamiento de los machos (a) y hembras (b) de diferente color de pelaje en relación al tiempo relativo dedicado a las diferentes unidades comportamentales

En el análisis de las cópulas también aparecen diferencias entre las parejas homocromáticas. Tanto el número de períodos copulatorios (PC) como de cópulas dentro de cada uno difiere marcadamente entre los dos morfos. Los enfrentamientos de las parejas melánicas constan en todos los casos de dos cópulas (solamente en un caso ambas cópulas dentro del mismo PC) mientras que las parejas agutí exhiben entre tres y 14 cópulas, con un máximo de tres cópulas en el mismo PC (Tabla III-VI). Las cópulas son más prolongadas en los agutí  $24,6 \pm 17,75$  s,  $n=25$ ) que en los melánicos ( $11,65 \pm 4,40$  s,  $n=6$ ) (Prueba de Mann-Whitney,  $p \leq 0,05$ ). En dos de las tres parejas agutí, las primeras cópulas constan solamente de intromisiones con movimientos pélvicos (IMP), mientras que el número de intromisiones prolongadas (IP) en cada cópula aumenta hacia los PC finales. Sin embargo en las parejas melánicas todas las cópulas excepto una exhiben intromisiones prolongadas. En términos generales las parejas agutí presentan mayor variabilidad en relación al número de ciclos PI/PC que exhiben, así como a la duración y frecuencia en la ocurrencia de cópulas, en comparación con el comportamiento más homogéneo de los individuos melánicos.

## DISCUSIÓN

---

Los patrones comportamentales desplegados durante los enfrentamientos macho-hembra entre individuos de igual color de pelaje, se estructuran en base a las mismas categorías conductuales. Sin embargo en parámetros fundamentalmente vinculados a la estimulación táctil antes y durante la cópula, surgen diferencias entre ambas formas cromáticas.

### Estructura general del comportamiento sexual

El comportamiento sexual de *C. rionegrensis* puede dividirse en tres fases: i) fase agonística que caracteriza el comienzo del encuentro e involucra posturas agresivas con exposición de los incisivos y movimientos de avance y retroceso, ii) cortejo en donde se produce la estimulación, sincronización y orientación de la pareja y iii) cópula, que además de la función de transferencia de esperma y fertilización de los óvulos, posee ciertas características que la integran al cortejo como se discutirá más adelante.

La existencia subterránea del género *Ctenomys* condiciona la comunicación entre los individuos, al imponer dos restricciones fundamentales: la falta de luz en las galerías y la altura de los túneles (Altuna et al. 1991), exigiendo la sustitución o modificación de pautas comportamentales frecuentes en otros roedores histricognatos. A su vez, como se discutirá en adelante, podría explicar la convergencia en cuanto a las características del comportamiento sexual con géneros no emparentados de roedores subterráneos.

La orientación frontal que se observa a lo largo del enfrentamiento, exhibe las mismas pautas de los enfrentamientos agonísticos pero con intensidad atenuada con respecto al despliegue frontal de elevación de cabeza y apertura de bocas. La presencia de estos despliegues de agresión ritualizada, en el repertorio comportamental de *C. rionegrensis* en que los encuentros ocurren dentro de túneles desprovistos de luz, puede deberse a su aparición filogenética temprana en los mamíferos (Heymer 1982). Un despliegue inicial con las mismas características fue reportado en *C. pearsoni*, (Tassino 1992) *C. mendocinus* (Camin 1999), *C. talarum* (Zenuto et al. 2002), *S. ehrenbergi* (Nevo 1969) y descrito para los cávidos (Rood 1972).

La lordosis, postura típica de solicitud de las hembras receptoras sexualmente, no ocurre en *C. rionegrensis*, ni en *C. pearsoni* (Tassino 1992, Francescoli 1999), debido

posiblemente a la restricción del uso de señales visuales, aunque esta postura es adoptada por las hembras dominantes de la colonia en *Heterocephalus glaber* (Jarvis, 1991). Del punto de vista funcional, las hembras de tucu-tucu receptivas posibilitan la intromisión del pene del macho moviendo la cola hacia un costado, pero sin efectuar hundimiento lumbar. También están ausentes otros despliegues visuales comunes en histricognatos como piloerección y movimientos de la cola (Kleiman 1974).

En varios géneros, tales como *Spalax* (Heth et al. 1988), *Heterocephalus* (Pepper et al. 1991) *Cryptomys* (Hickman 1982, Bennett y Jarvis 1988a) *Georychus* (Bennett y Jarvis 1988b) y *Ctenomys* (Camín 1999, Francescoli 1999, Zenuto et al. 2001 Schleich y Busch 2002) se reportan vocalizaciones propias del contexto sexual. En *C. pearsoni* se registra una estricta correlación entre la vocalización “señal tipo C” de la hembra y la ocurrencia de cópula, en base a lo cual se plantea una sustitución de los despliegues visuales de lordosis en las hembras receptivas por una “lordosis acústica” a través de la emisión de vocalizaciones específicas de este contexto (Francescoli 1999). Sin embargo, en nuestras experiencias esta correlación entre vocalización y cópula no fue observada. A diferencia también de *C. pearsoni*, donde durante el cortejo sólo las hembras vocalizan (Francescoli 1999), en *C. rionegrensis*, al igual que en *C. talarum* (Zenuto et al. 2001) y *C. mendocinus* (Camín 1999), vocalizan ambos sexos. Los machos pertenecientes a las dos poblaciones analizadas en esta investigación emiten sonidos similares a “ronroneos” bien definidos y fácilmente audibles, seguramente con función de apaciguamiento e indicadores de la motivación reproductiva. Estos sonidos no son homologables a las señales tipo G reportadas para *C. pearsoni*, ya que son emitidas exclusivamente por los machos y no se registran durante la fase agresiva del encuentro. Si bien en otros histricognatos, se ha registrado podofonía o producción de sonidos por medio del golpeteo de las patas contra el sustrato (Kleiman 1974), en los tucu-tucus el canal vibracional se restringe a vocalizaciones.

Aunque la comunicación química presentaría importantes ventajas en el ambiente subterráneo, poco se conoce de su papel en los roedores que habitan ese ecotopo, y menos aún se sabe de la percepción quimiosensorial. En especies solitarias la comunicación química podría suceder principalmente en dos contextos: a larga distancia entre animales ocupando distintos sistemas de galerías y durante los encuentros sexuales. Altuna y Corte (1989) describen una glándula perineal en *C. pearsoni* y *C. rionegrensis* a la vez que proponen un sistema de “marcaje” del territorio mediante la deposición de heces en las bocas de las cuevas. En este sentido, en experiencias en el laboratorio se ha

observado el arrastre de la zona ano-genital contra el sustrato o el piso de los túneles como forma de marcar el sitio. Además, dos unidades comportamentales vinculadas a la comunicación química se registran en esta especie: orientación naso genital y hociqueo. La primera se describe también para el cortejo de *C. pearsoni* en ambos sexos (Tassinio 1992) mientras conductas similares también están presentes en otras especies de *Ctenomys* (Camin 1999, Zenuto et al. 2001), en histricognatos cursoriales (Rood 1972) y en los batiérgidos (Bennett y Jarvis 1988, Bennett 1989). La categoría definida como hociqueo es realizada por machos y hembras, donde al encontrar orina u otra fuente de olor, los animales contactan durante algunos segundos frotando el hocico contra el sustrato y fue observada también en *C. talarum* (Zenuto et al. 2002). Recientemente un conjunto de trabajos en esta última especie, han explorado la capacidad de discriminar entre individuos, entre sexos y condición reproductiva a partir de diversas fuentes de olores (orina, sustrato de viruta, fecas) con diferentes resultados si los animales sólo recibieron pistas químicas volátiles o si accedieron al contacto directo con las muestras (Zenuto y Fanjul 2002, Fanjul et al. 2003, Zenuto et al. 2004) En este sentido y extendiéndolo a las pautas observadas durante el cortejo, la necesidad de establecer contacto con la fuente de estímulo podría indicar la participación del órgano vomeronasal (Heth y Todrank 1995). En la especie colonial *C. sociabilis* se ha registrado la capacidad en los machos, pero no en las hembras, de discriminar entre sexos a través de olores (Schwanz y Lacey 2003). En nuestras experiencias, los machos dedican más tiempo que las hembras a este comportamiento, vinculado quizá a la búsqueda de pistas químicas que indiquen el estado reproductivo de la pareja.

Los altos valores tanto de frecuencia de aparición como de duración de las unidades de aloaseo, evidencian la importancia de la comunicación táctil en estos roedores. Estas conductas son comunes en otros histricognatos, registrándose su ocurrencia en diferentes contextos (Kleiman 1974). En los geómidos aparece este comportamiento en *Thomomys talpoides* (Andersen 1978) pero no en *T. bottae* (Schramm 1961), mientras que machos y hembras de *S. ehrenbergi* exhiben diferentes patrones al ejecutar este comportamiento. Aunque en *C. rionegrensis* la pauta comportamental es la misma, se evidencia dimorfismo sexual en tanto que los machos estimulan durante más tiempo y con mayor frecuencia a las hembras que viceversa. También en la mayoría de roedores muroideos, los machos con los que más efectúan esta conducta (Dewsbury 1975).

El autoaseo genital aunque frecuente en los histricognatos (Kleiman 1974), no se ha reportado en geómidos (Schramm 1961, Andersen 1978), pero aparece en *C. hottentotus*

(Kleiman 1974) y en *S. ehrenbergi* (Nevo 1969) tanto en hembras como en machos. En *C. rionegrensis* esta unidad tiende a ser más frecuente en el macho, aunque no exclusiva, y generalmente se presente luego de la cópula o de un intento de monta, mientras que en *C. pearsoni*, no se observa en las hembras (Tassinio 1992). Ferkin et al. (1996) demostraron experimentalmente que en *Microtus pennsylvanicus* el autoacicalado genital de los machos aumenta su atracción sexual. Aunque el autoacicalado o "grooming se considera una actividad desplazada (Slater 2000), se ha detectado que en las rata- topo, secreciones de la glándula harderiana son liberadas mediante este comportamiento e inhiben la agresión de coespecíficos (Shanas y Terkel 1996, 1997)

El intento de monta (IM), unidad exclusiva de los machos y del contexto sexual en esta especie, también lo realizan las hembras de *C. mendocinus* durante el cortejo (Camin 1999), al igual que en *Cavia* y *Dinomys* (Beach 1968, Collins y Eisenberg 1972)

Un marcado dimorfismo sexual se constata durante el desarrollo del cortejo en *C. rionegrensis*. Los machos realizan con más frecuencia y/o durante más tiempo que las hembras, unidades como aloaseo efector, aseo genital, orientación y hociqueo, y de forma exclusiva sumisión e intento de monta. Por otro lado la recepción de aloaseo y la locomoción no orientada son las unidades más representadas en las hembras. El rol más activo del macho, conjuntamente con la emisión de vocalizaciones y la disminución de la agresividad a medida que transcurre el enfrentamiento, sugiere que la función principal de esta fase de cortejo llevada adelante por el macho es apaciguar la agresividad de la hembra y estimular su receptividad sexual (Krebs y Davies 1984). La disminución de la agresión entre los miembros de la pareja mediante contactos corporales es reportada también por Gazit y Terkel (2000) en *S. ehrenbergi*, donde a los despliegues de un elaborado cortejo se les atribuye la función de superar la hostilidad característica de los encuentros entre individuos solitarios e inducir a la hembra a copular (Nevo 1969).

La protección que brindan las galerías como ámbito donde se desarrolla el cortejo y la cópula posibilita la extensión en el tiempo de estos comportamientos (Andersen 1978). La vida solitaria de la mayoría de estos animales y la necesidad tanto de apaciguar la agresividad como de sincronizar la respuesta sexual de las hembras, estaría jugando también a favor de cortejos elaborados y prolongados, con alta carga de estimulación táctil como ocurre en *S. ehrenbergi* (Nevo 1969) y *T. talpoides* (Andersen 1978). Sin embargo la duración de estos comportamientos en diversos grupos de vida subterránea, es muy heterogénea, sin correlación clara con el sistema social. Así en *Georychus capensis*,

solitario, el macho copula sin cortejo previo (Bennett et al. 2000), aun siendo las hembras ovuladoras inducidas (van Sandwyk y Bennett 2005), mientras *Cryptomys hottentotus hottentotus* de vida social, despliega un elaborado despliegue que involucra vocalizaciones de ambos sexos y aloacicalamiento (Bennett 1989).

Zarrow y Clark (1968) plantean que, en general, la ovulación de las hembras en especies gregarias depende de factores como el fotoperíodo, descargas hormonales y mecanismos de estimulación. En especies solitarias, sin embargo, la ovulación depende en gran medida de este último factor, por lo cual la ovulación inducida sería un mecanismo apropiado en estas especies, donde el encuentro entre parejas potenciales no es frecuente. Weir (1974) plantea como ovuladoras inducidas a las hembras del género *Ctenomys*, condición que lograría maximizar el éxito reproductivo, al liberar gametos exclusivamente en presencia de un macho que garantice la fecundación. *C. rionegrensis* presenta un conjunto de estructuras peneanas, como estilos y espinas, especialmente en la zona del glande, que podrían actuar como fuente de estimulación cérvico-vaginal durante el apareamiento (Altuna y Lessa 1985). De esta manera durante la cópula, las rápidas y frecuentes intromisiones con movimientos pélvicos, se consideran estimuladoras, mientras que las intromisiones prolongadas, de mayor duración y profundidad se homologan a las intromisiones eyaculatorias descritas por Bignami y Beach (1968). Los altos requerimientos de estímulo son en parte satisfechos por el aloaseo, en su doble función de neutralizar la agresividad y persuadir la cópula, así como por los empujes pélvicos durante el apareamiento, tendientes a inducir la ovulación y asegurar la fertilización. En este sentido Dewsbury (1988) propone a la cópula como comportamiento integrado al cortejo, en una modalidad de comunicación táctil, debido a la importante estimulación proporcionada por las intromisiones sin eyaculación. Se ha planteado el concepto "código vaginal" (Diamon 1970), en el sentido de que los patrones de estimulación copulatoria puedan determinar respuestas neuroendócrinas diferenciales. En esencia, intromisiones con movimientos pélvicos no eyaculatorias, comparables a otras formas de interacción de cortejo, con una alta carga de estimulación táctil, deberían permitir valorar a la pareja y por lo tanto proveer las bases para una posible elección críptica por parte de la hembra (Eberhard 1996)

### Secuencia de comportamiento

El análisis de la secuenciación del comportamiento revela que, si bien existe un patrón general conformado por un repertorio de 16 unidades, donde resalta la importancia del aloacicalamiento y donde se reconoce un núcleo de transiciones de unidades comportamentales común a todos los individuos, el conjunto de las unidades presenta una marcada variación individual. De todas maneras, se observa una variación temporal a lo largo del enfrentamiento, por ejemplo, los comportamientos agonísticos aunque están presentes durante todo el encuentro, los tenores de agresividad varían a medida que éste transcurre. Las orientaciones frontales iniciales, van siendo remplazadas por otras unidades donde el macho responde a la agresión de la hembra (E) con un comportamiento apaciguador al exponer la zona del cuello (S). Las unidades vinculadas a la estimulación disminuyen tanto en frecuencia de aparición como en la duración hacia el final del encuentro dando lugar al aumento de unidades no interactivas, culminando con quietud de ambos individuos separados o en contacto. Esta última pauta no ha sido reportada para *C. pearsoni* (Tassinio 1992) pero es frecuentemente observada en esta especie, inclusive durante enfrentamientos entre individuos del mismo sexo.

El análisis de las secuencias presenta un particular problema estadístico ya que las grandes matrices de transición generadas en estudios etológicos son a menudo inabordables (Fagen y Mankovich, 1980). En el cortejo de *C. rionegrensis* se identifica un alto número de unidades comportamentales, resultando matrices de transición imposibles de ser sometidas a análisis estadísticos clásicos en estos casos, como la prueba de Chi cuadrado, debido a que gran cantidad de celdas de la matriz presentan frecuencias esperadas menores a cinco. Como alternativa, se pueden agrupar unidades poco representadas de forma de disminuir el número de celdas y aumentar el valor de las transiciones bajas. Esta solución tiende a perder gran cantidad de información y no contribuye a dilucidar el patrón general del comportamiento sexual en esta especie que se presenta bastante complejo. A su vez, las distintas secuencias de transiciones de unidades ocurren diferencialmente a lo largo del enfrentamiento, por lo que no cumple con el supuesto de estacionalidad requerido para este análisis (Passos 2003)

### Patrón copulatorio

Dewsbury (1972) ha establecido una clasificación basada en la combinación de cuatro atributos para el estudio comparativo de la cópula en mamíferos: presencia o ausencia de enganche, empujes intravaginales, múltiples intromisiones y múltiples eyaculaciones. El patrón copulatorio se relaciona con la estructura social, el sistema de apareamiento, la fisiología reproductiva y factores ecológicos (Altuna et al. 1991). Al presentar alto grado de estereotipia y estabilidad dentro de las especies, es útil en estudios comparativos (Dewsbury 1975). Numerosos estudios han caracterizado el patrón copulatorio de distintas especies de roedores. Dentro de los subterráneos *Cryptomys* (Hickman 1982), *Thomomys* (Andersen 1978) y *Georychus* (Bennet y Jarvis, 1988b) presentan el patrón caracterizado por la ausencia de enganche, presencia de empujes vaginales, múltiples intromisiones y múltiples eyaculaciones (patrón 9), mientras que en *S. ehrenbergi* (Nevo 1969) la ocurrencia de una única intromisión y eyaculación lo sitúa en el patrón 12. En la familia Octodontidae ha sido reportado el patrón 9 en *Octodon* y el 11 en *Octodontomys* (ausencia de enganche, presencia de empujes vaginales, ausencia de múltiples intromisiones y presencia de múltiples eyaculaciones) (Kleiman 1974). A su vez *C. pearsoni* presenta el patrón 9 (Altuna et al. 1991) al igual que *C. talarum* (M.S. Fanjul com. pers.) mientras se reportó el patrón 12 en *C. mendocinus* (Camin 1999).

En una primera aproximación nuestros resultados podrían enmarcar a esta especie en el patrón 9 (ausencia de enganche, presencia de empujes, múltiple intromisión y múltiple eyaculación) en base a la ocurrencia de intromisiones con empujes pélvicos, más de una cópula y frecuentes intromisiones prolongadas (homologables a eyaculatorias siguiendo a Altuna et al. 1991). Sin embargo, experiencias posteriores, en que a las hembras se les tomó una muestra de exudado vaginal inmediatamente después de la cópula, para comprobar la presencia de espermatozoides, han revelado que no todas las intromisiones prolongadas estuvieron acompañadas de eyaculación. Por otro lado, la ocurrencia reiterada de intromisiones sin transferencia de esperma no es suficiente para establecer la múltiple intromisión, sino que el criterio debe basarse en si éstas constituyen o no un prerrequisito para que la eyaculación ocurra (Dewsbury 1972). En este sentido, la falta de certeza en esta investigación, sobre en cuales intromisiones prolongadas ocurrió transferencia de esperma, impide enmarcar con convicción a esta especie dentro de la clasificación dewsburiana. Además, mientras los machos melánicos exhiben intromisiones prolongadas desde la primera cópula, en la mayoría de los agutís aparecen de la tercera cópula en adelante, lo cual indica diferente exigencia en relación al tiempo y estimulación

necesaria para que se produzcan. En ese sentido, le correspondería a cada fenotipo una categoría diferente dentro del sistema planteado. Estos aspectos, conjuntamente con diferencias entre estas poblaciones en otros parámetros del comportamiento sexual, generan interesantes nuevas preguntas.

### Comparación entre las dos variantes cromáticas

Los individuos de ambas poblaciones comparten el patrón general de comportamiento sexual. Las unidades comportamentales presentan, dentro de los límites de la amplia variabilidad individual, similares distribuciones de frecuencia y duración en cada sexo. Son evidentes además, en las distintas categorías, las mismas tendencias de organización a lo largo del enfrentamiento. Los fenotipos analizados comparten núcleos centrales de transiciones en donde el aloaseo aparece como una unidad central, aunque en las parejas agutí los porcentajes de tiempo dedicados a esta actividad son mayores que en las parejas melánicas, aunque el bajo número muestral alcanzado, impide someter estos datos a contraste de hipótesis. Sin embargo, existen diferencias significativas tanto en la duración total del enfrentamiento como en la latencia de intento de monta entre los dos pelajes, así como en los valores de latencia de intromisión, número de cópulas y de ciclos PI/PC.

Aunque aparece como necesario generar un mayor número de enfrentamientos donde ocurra cópula, para verificar si estas tendencias se mantienen, estos resultados, junto a los descritos en la sección anterior, indican que el polimorfismo en el color del pelaje se vincula con diferencias en el comportamiento sexual, el cual constituye el eje sobre el que se articulan los mecanismos de reconocimiento y/o aislamiento reproductivo. La expresión diferencial de caracteres en función del color del pelaje, se ajusta a nuestra hipótesis de que las formas agutí y melánica en esta especie constituyen “fenotipos alternativos” en el sentido de West-Eberhard (1986). Como referente, el polimorfismo en la coloración del pelaje ha sido ampliamente estudiado en *Peromyscus maniculatus*, donde se han registrado efectos pleiotrópicos del gen agutí sobre el metabolismo, produciendo diferencias neuroquímicas, anatómicas y comportamentales entre las formas cromáticas (Hayssen et al. 2002). Los individuos melánicos en esa especie, exhiben menores niveles de agresión y actividad que los agutís, así como diferente respuesta fisiológica frente a situaciones de estrés (Hayssen 1997, Hayssen et al. 2000). En este contexto deben encuadrarse nuestros resultados, aún cuando los bajos niveles de flujo génico entre

poblaciones (Wlasiuk et al. 2003), impiden descartar que las diferencias observadas entre los individuos de distinto pelaje, sean producto de divergencia en términos geográficos.

Las claras diferencias entre individuos agutí y melánicos en la tasa de actividad sexual, manifestada tanto en la duración del enfrentamiento, como en la cantidad de ciclos de cópula e intercópula, genera preguntas en torno a los mecanismos neuroendócrinos implicados en la inducción de la ovulación, en estas condiciones de variabilidad en la cantidad de estimulación desplegada por los machos de cada morfo.

Por otro lado, West-Eberhard (1983, 2002) predice que cambios en las circunstancias sociales propias de cada población (p.ej. las que resultan de la selección sexual) en alopatría, pueden promover rápida divergencia y e inclusive aislamiento precopulatorio entre poblaciones en el caso de contacto secundario. Evidencia de aislamiento en este sentido, en dos poblaciones alopátridas de la misma especie, en base principalmente a discriminación olfativa, ha sido reportado en *Otomys irroratus* (Pillay et al. 1995)

La distribución de estas variantes del comportamiento sexual en otras poblaciones de *C. rionegrensis* es todavía desconocida, de manera tal que, analizar enfrentamientos entre individuos de igual fenotipo en poblaciones polimórficas, puede permitir establecer el grado de correlación entre las diferencias registradas y el color del pelaje. De esta manera será posible discriminar entre dos alternativas: que las diferencias halladas entre los fenotipos de poblaciones puras se deban a diferencias poblacionales en virtud de su aislamiento geográfico y divergencia genética y estén casualmente asociadas a los pelajes; o que las diferencias reflejen características propias de cada pelaje y por lo tanto se mantengan en las poblaciones polimórficas. De todas maneras, la ausencia de apareamientos homocromáticos preferenciales y la ocurrencia de camadas mixtas en estas poblaciones, no invalidan la posibilidad de que, de mantenerse las diferencias, podrían estar implicadas en la selección intersexual, a través de la elección de la hembra, inclusive durante o después de la cópula (Eberhard 1996). La ovulación refleja establece un escenario favorable para la elección crítica de las hembras, ya que brinda la posibilidad de sesgar la liberación de óvulos en función de la calidad de la estimulación recibida. En esta dirección se abre una interesante línea de investigación, amparada por el sólido marco conceptual establecido por Eberhard (1996) al respecto.

---

## CAPÍTULO IV

### Preferencias de apareamiento

---

#### ANTECEDENTES

---

La selección sexual posee el potencial de conducir procesos de divergencia rápida entre poblaciones, al ser independiente del ambiente y predisponer al establecimiento de aislamiento reproductivo, por su efecto directo sobre los caracteres involucrados en el reconocimiento de pareja. A su vez puede incidir indirectamente en los mecanismos de especiación al incrementar la tasa de cambio dentro de poblaciones aisladas (Panhuis et al. 2001). Aunque numerosos modelos han demostrado que teóricamente la formación de nuevas especies por medio de la selección sexual es posible (Lande 1981, Turelli et al. 2001) la mayoría de la evidencia empírica proviene de estudios comparativos entre clados. Sin embargo, en algunos grupos se han detectado sustanciales diferencias dentro de una especie, en caracteres sexualmente seleccionados en los machos y las correlativas preferencias en las hembras (Boake 2000, Panhuis et al. 2001).

La intensidad de la selección sexual es dependiente del grado de competencia por los apareamientos, sujeto a su vez a la diferencia en el esfuerzo parental entre sexos y a la proporción sexual operacional. Cuando los machos no proveen cuidado parental y las hembras son asincrónicas en su receptividad reproductiva, se genera una intensa competencia sexual (Krebs y Davies 1984). Si a estas condiciones se le suma distribución espacial agregada en las hembras, se establece un medio de alto potencial poligámico (Emlen y Oring 1977), y consecuentemente un aumento en la varianza en el éxito de los machos (Bateman 1948). La gran inversión reproductiva que realizan las hembras, especialmente en el caso de los mamíferos, con altos costos de gestación y lactancia, determina que estén sometidas a mayor presión de selección, a favor de una adecuada elección de pareja (Andersson 1994).

Se ha reportado que los sistemas de apareamiento en muchas especies solitarias de roedores subterráneos, se basan en la poliginia de defensa de recursos, apoyado en el dimorfismo sexual en tamaño corporal, ausencia de paternidad múltiple y estructuración espacial agrupada, con el territorio de un macho rodeado de hembras que no solapan sus áreas de actividad (Patton y Feder 1981, Zenuto et al. 1999, Zenuto et al. 2002).

Aunque la distribución espacial agregada de los tucu-tucus de Río Negro, analizada en el Capítulo I, muestra núcleos de composición diversa, a la vez que cuestiona la condición de vida estrictamente solitaria en esta especie, el dimorfismo sexual en tamaño a favor de los machos y la proporción sexual sesgada hacia las hembras, son indicadores de posible competencia por el acceso a las parejas. El amplio período reproductivo de la población, establecido en parte por la asincronía en el estro de las hembras, aumenta la posibilidad de los machos de monopolizar apareamientos y por lo tanto de generar alta varianza en el éxito reproductivo (Trivers 1972, Emlen y Oring 1977). En este contexto, la intensidad de la selección sexual es alta y recaería sobre las hembras una fuerte presión a favor de la selectividad al momento de elegir con quien aparearse (Krebs y Davies 1984, Andersson 1994). El destacado componente de estimulación que tiene el cortejo en esta especie, con un papel claramente efector por parte de los machos, aporta elementos en la misma dirección, sumado a que la ovulación parecería ser inducida por la cópula, entre otros estímulos.

Por otro lado, estimaciones de diversos parámetros poblacionales mediante alozimas y microsatélites, revelan la existencia de subdivisión intrapoblacional posiblemente debida a sesgos de apareamiento en donde el color del pelaje podría estar implicado (D'Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2001, 2003)

La hipótesis de trabajo planteada se centra en que los machos melánicos deberían resultar seleccionados al momento de elegir pareja, para que la selección sexual mediante las preferencias de las hembras, equilibre la presión de depredación contra estos individuos, por el contraste que su color genera con el sustrato arenoso en que habitan. A partir entonces de este balance, podría establecerse una posible explicación respecto al mantenimiento del polimorfismo cromático en esta especie, y contribuir de esa manera, a la comprensión de los procesos de especiación rápida, usando a *C. rionegrensis* como modelo. En este sentido nuestro objetivo es examinar la posible existencia de preferencias de apareamiento entre las formas agutí y melánica de esta especie, mediante estudios experimentales de selectividad de la hembra frente a machos de diferente fenotipo.

La capacidad de determinar la condición reproductiva individual de las hembras, e inclusive de inducir el estro, posibilita un preciso control sobre una variable determinante en las elecciones que éstas realizan en diversos contextos (Sherman et al. 1997, Pillay 2000). Además, las diferencias encontradas en parámetros del comportamiento sexual en las variantes cromáticas de esta especie, sustentan en buena medida las estrategias

experimentales de esta investigación, apoyando la hipótesis general de que las formas de coloración discretas podrían corresponder en esta especie a “fenotipos alternativos”.

## MÉTODOS

---

### Pruebas de preferencia de apareamiento 2002-2003

Se colectaron hembras adultas de *C. rionegrensis* durante dos estaciones reproductivas consecutivas (julio 2002 - julio 2003) en la población dimórfica para el color del pelaje agutí-melánica de la localidad El Tabaré (33° 21,48 S, 58° 18,59 W) y machos adultos de las poblaciones monomórficas de Los Arrayanes (33° 13,98 S, 58° 01,47 W) y Las Cañas (33° 11,25 S, 58° 21,21 W) agutí y melánica respectivamente (Tabla IV-I).

Los animales fueron trasladados hasta el lugar de las pruebas en jaulas de alambre de 32x15x15 cm y se mantuvieron en cautiverio en terrarios plásticos individuales de 38x30x32 cm sustrato de virutas de madera y tapa de rejilla metálica. Se les suministró alimento (pasto fresco, zanahoria, manzana, semillas de girasol) *ad libitum* y se mantuvo el fotoperíodo natural.

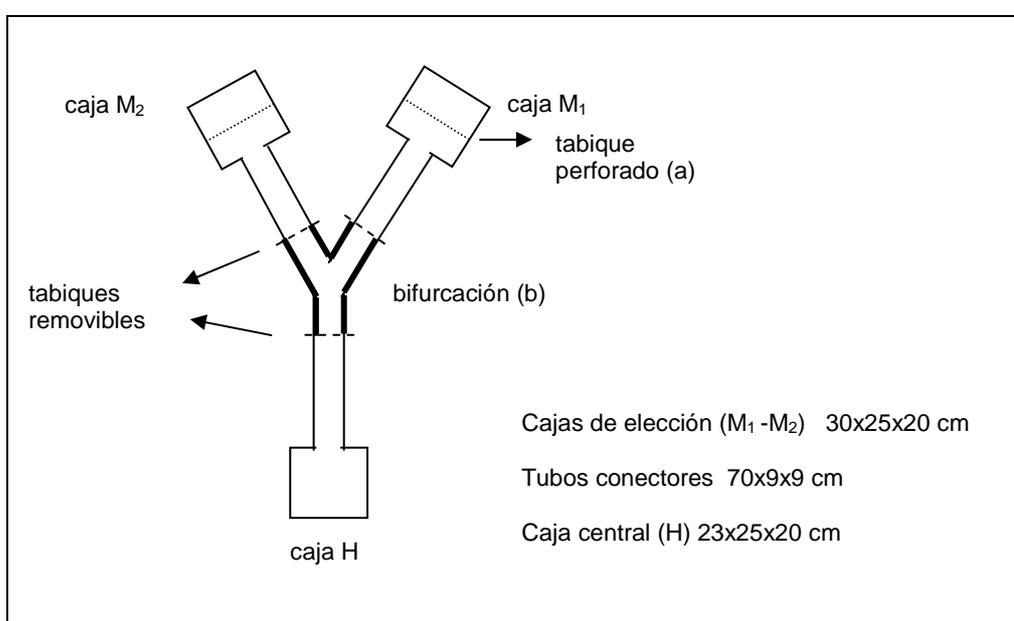
Las pruebas de preferencia se realizaron en un laboratorio acondicionado en el campo, luego de un mínimo de 48 h de aclimatación a las condiciones de cautividad. Al terminar las pruebas los animales fueron identificados individualmente a través del corte de una de las falanges de un dedo de una de las patas posteriores y liberados en el mismo lugar de la captura. El tejido obtenido se conserva en alcohol 95% en la colección del Laboratorio de Evolución, Facultad de Ciencias para posteriores análisis genético-moleculares.

Los ensayos de elección de pareja por parte de la hembra se llevaron a cabo en un dispositivo en forma de Y integrado por tubos y cajas de acrílico transparente, elementos independientes y encastrables entre sí (Fig. IV-1).

En cada ensayo, una hembra fue sometida a la elección entre dos machos de diferente coloración de pelaje. Las hembras provenían de la población dimórfica para este carácter, mientras que los machos pertenecían a las poblaciones monomórficas. Este criterio con

respecto al origen de los ejemplares contempló que la posible elección estuviera basada exclusivamente en los caracteres asociados al pelaje sin que interfirieran relaciones de parentesco o vínculos anteriores entre la hembra y los machos en experimentación, en cada una de las pruebas.

La caja de la base del dispositivo se le asignó a la hembra (caja H) y se determinó al azar la ubicación a izquierda o derecha de cada macho en los extremos de los brazos de la Y, al inicio de cada ensayo (cajas M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub>)



**Figura IV-1.** Esquema del dispositivo utilizado en las pruebas de preferencia

Cada hembra participó solamente en una prueba, sin embargo la misma dupla de machos melánico-agutí, fue sometido a elección de dos hembras de diferente pelaje.

Los ensayos se realizaron en una habitación con luz artificial, aislada, sin presencia del experimentador durante la aclimatación ni el ensayo. La adquisición de la imagen de la totalidad del dispositivo durante las pruebas se realizó a través de una cámara fija con cronómetro incorporado (Panasonic PV-DV 100), y fue registrada en cinta de video en un videograbador (Panasonic NV-HS 1000) ubicado en una habitación contigua. A su vez, la conexión a un monitor (Sony PVM 1354Qf) permitió la observación de la prueba desde el exterior la sala de experimentación, sin interferir.

El protocolo experimental consistió en las siguientes etapas:

1. disponer a los machos en sus cajas ( $M_1$  y  $M_2$ ) durante 15 min, con viruta de madera de sus respectivos terrarios de mantenimiento, pero separados del resto del sistema
2. colocar a la hembra en la caja H conectada al sistema y permitiéndole explorar el dispositivo 5 min, hasta la bifurcación (b) limitada por una lámina de acrílico.
3. insertar una lámina de acrílico perforada en las cajas de los machos (a) recluyéndolos a los dos tercios más distales de sus respectivas cajas, de tal manera que la hembra pudiera acceder a la porción de la caja próxima al tubo conector, facilitando la percepción de señales visuales, acústicas y químicas de los machos pero impidiendo el contacto.
4. incluir las cajas de los machos en el sistema
5. habilitar a la hembra la exploración completa del dispositivo excepto su propia caja, al retirar la lámina de acrílico de la bifurcación y colocarla en la entrada de la caja H.
6. comenzar la grabación en video simultáneamente a 5)
7. registrar la prueba durante 15 min
8. lavar con agua, jabón detergente y cepillo el conjunto de tubos, cajas y láminas separadoras

Se realizaron 50 ensayos: 21 hembras melánicas (14 en 2002 y 7 en 2003) y 29 hembras agutí (16 y 13 respectivamente), que fueron enfrentadas a duplas de machos de distinto pelaje tomados de un total de 25 (6 melánicos y 6 agutí en 2002, 8 y 5 respectivamente en 2003). Cuando una hembra permaneció inmóvil en su sector, sin explorar el sistema, se descartó la prueba del análisis, lo cual ocurrió con una hembra agutí y otra melánica (ambas correspondientes al 2002), de tal modo que fueron consideradas 48 pruebas.

A través del registro en video, se obtuvo la secuencia de regiones del dispositivo visitadas por la hembra, así como los tiempos de permanencia y las frecuencias de entrada en cada una. Se definieron las siguientes regiones del sistema:

- a. región neutral: tubo adjunto a la caja de la hembra (H) y el centro o bifurcación (b)
- b. caja y tubo de cada macho ( $M1/M2$ )
- c. sector macho: la caja más el tubo correspondiente a cada macho
- d. región machos: se consideran ambos sectores de macho juntos

La frecuencia de entrada al tubo y caja se diferencian de la del sector debido al movimiento de la hembra entre la caja y el tubo de un sector, sin salir del mismo. La suma de las frecuencias de entrada a cada sector es igual a la frecuencia de pasaje por el sector neutral, por tanto esta última cifra no fue considerada en este análisis.

Se analizó la preferencia de las hembras en base a la comparación tanto del tiempo de permanencia como de la frecuencia de visita a los sectores de los diferentes machos a través de la prueba de Wilcoxon para 2 muestras pareadas. La misma prueba se utilizó para determinar si las hembras permanecieron más tiempo en el sector de los machos respecto a la región neutral (Sokal y Rolhf 1994). El comportamiento de ambos grupos de hembras durante los ensayos se comparó entre sí a través de la prueba de U-Mann-Whitney (Sokal y Rolhf 1994)

#### *Pruebas de preferencia de apareamiento con hembras en estro - 2004*

Los ejemplares fueron capturados en la población dimórfica para la coloración del pelaje de la localidad El Rincón (33° 20,43 S, 58°17,45 W), entre el 2 y el 5 de julio de 2004. Se colectaron 19 hembras agutí y 17 melánicas. Los machos (9 agutís y 7 melánicos) se capturaron en un área distante al menos 300 m del lugar de las hembras, a fin de evitar que entre machos y hembras hubiera existido contacto previo. Los animales fueron trasladados a la Facultad de Ciencias en jaulas de alambre de 32x15x15 cm con abundante pasto fresco y semillas de girasol. En el laboratorio fueron mantenidos en terrarios plásticos individuales de 38x30x32 cm con tapa de rejilla metálica, alimentados con pasto fresco, semillas de girasol, zanahorias y choclos. Durante el cautiverio se mantuvo el fotoperíodo natural.

Las hembras preñadas fueron descartadas de la experimentación. A todas las hembras se les realizó seguimiento de su estado reproductivo a través de exudados vaginales cada dos días para elegir aquellas a incluir en los ensayos.

Las pruebas se realizaron entre el 13 de julio y el 10 de setiembre del mismo año, a medida que las hembras exhibieron exudados vaginales con más del 80% de células superficiales nucleadas o anucleadas que revelan estado de estro fisiológico (Capítulo II). Esta condición fue alcanzada espontáneamente por algunas hembras (n=4), pero en la mayoría de los casos (7 hembras melánicas y 11 agutí) el estro fue inducido a través de

inyección hormonal. Se eligió hembras que no evidenciaran signos de preñez, de a pares, y se les administró 25µg de estradiol diluido en 0,25 ml de aceite vegetal mediante inyección subcutánea, seguido a las 48 h de la administración por la misma vía de 0,5 mg de progesterona diluido en igual cantidad del mismo vehículo (Sodersten y Hansen 1979, Sodersten et al. 1981). A las 24 horas estas hembras exhibieron exudados vaginales que denotaban el estado de estro y en las 12 horas siguientes se realizaron las pruebas de preferencia siguiendo el mismo protocolo experimental que la temporada anterior.

Se utilizaron las pruebas estadísticas Wilcoxon para 2 muestras pareadas en la comparación de las preferencias de las hembras entre diferentes machos y U-Mann-Whitney al comparar las hembras entre sí (Sokal y Rolhf 1994).

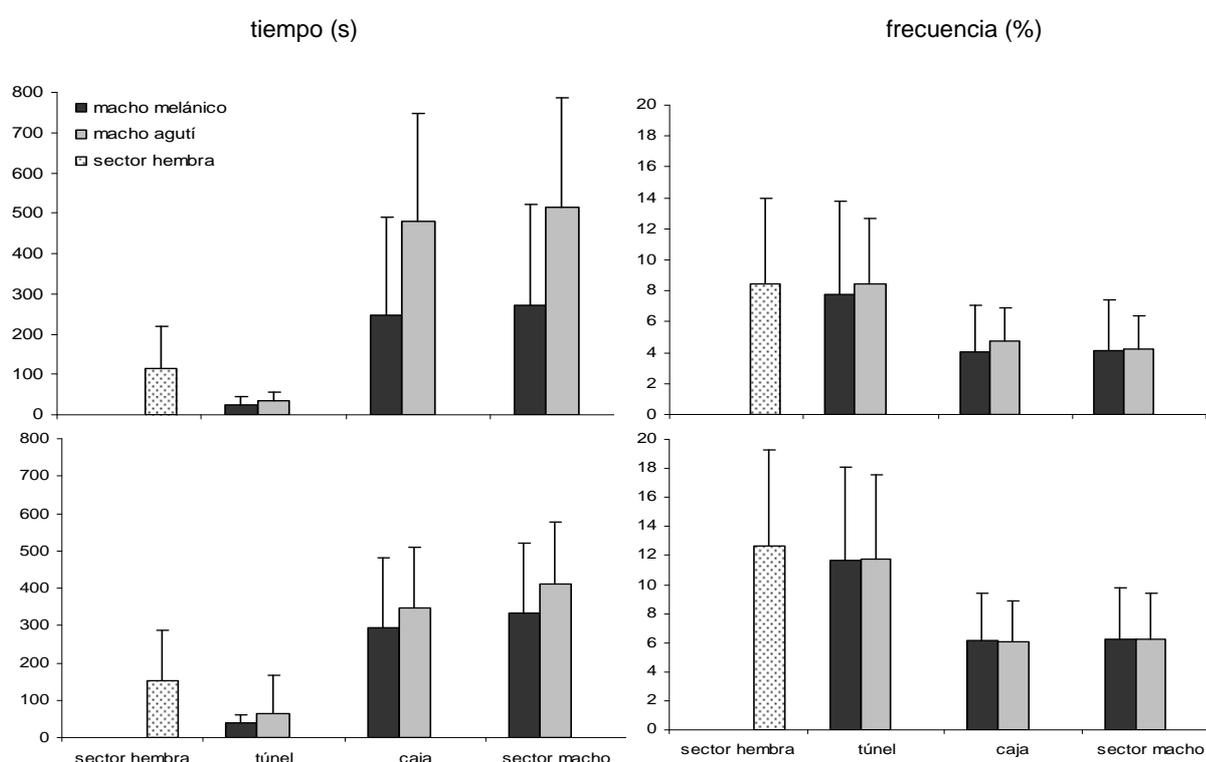
**Tabla IV-I.** Número de individuos por localidad, sexo y color del pelaje capturados y utilizados en las pruebas de preferencia cada año.

Localidad	Año	Sexo	Color	Nº capturas	Pruebas de preferencia
El Tabaré	2002	hembras	melánico	17	14
		"	agutí	31	16
	2003	"	melánico	15	7
		"	agutí	41	13
Las Cañas	2002	machos	melánico	10	10
	2003	"	melánico	7	7
Los Arrayanes	2002	machos	agutí	16	8
	2003	"	agutí	13	8
El Rincón	2004	hembras	melánico	17	9
		"	agutí	19	13
		machos	melánico	7	5
		"	agutí	9	6

## RESULTADOS

### Pruebas de preferencia 2002-2003

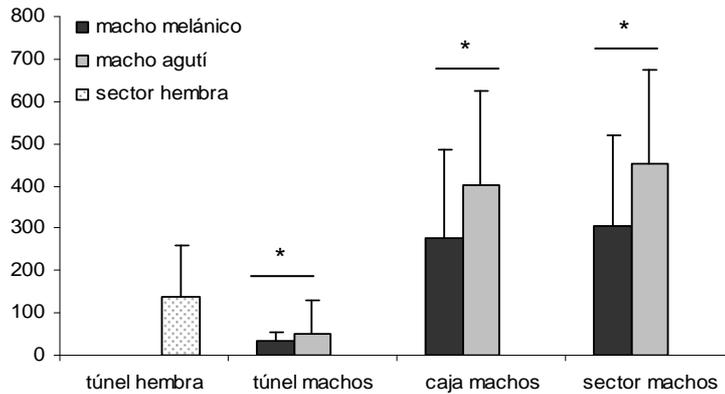
Las hembras en las pruebas de preferencia de apareamiento exhibieron un comportamiento altamente variable que se visualiza en los elevados valores de desvío estándar tanto en los que respecta a los tiempos de permanencia como a las frecuencias de entrada a los diferentes sectores del dispositivo (Fig. IV-2).



**Figura IV-2.** Representación del tiempo total dedicado a la exploración de cada sector del dispositivo (izquierda) y del porcentaje de entradas (derecha), para las hembras melánicas (n=20, arriba) y las agutí (n=28, abajo) en las pruebas de preferencia de apareamiento durante la estación reproductiva (2002-2003)

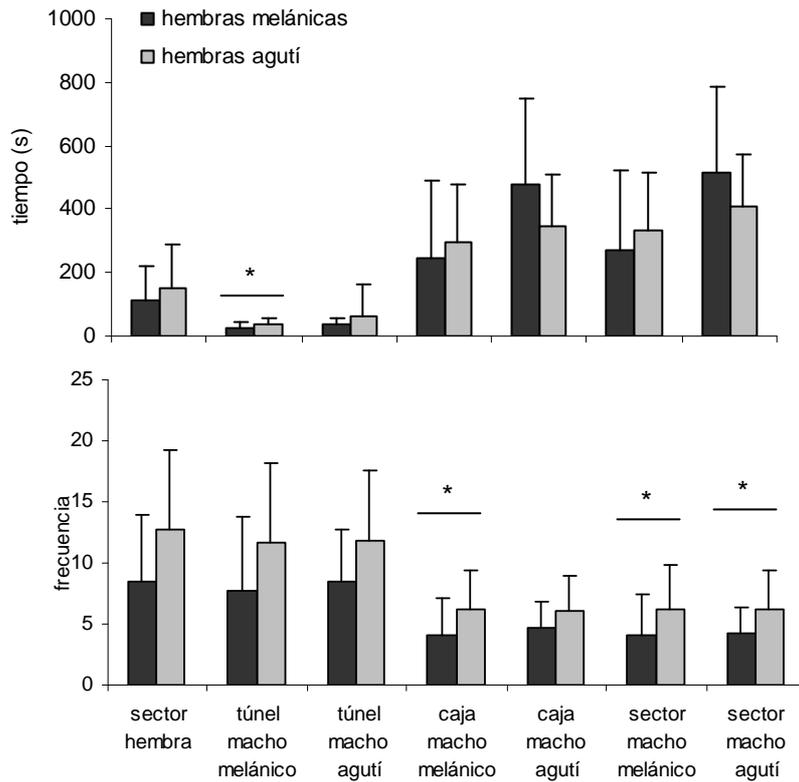
De todas maneras, la mayoría de las hembras visitaron la totalidad del sistema (80% de las melánicas y 96,5% de las agutí), dedicándose más a visitar y permanecer en las regiones del dispositivo pertenecientes a los machos (túnel y caja), que en el túnel neutral (Prueba Wilcoxon  $Z=6,00$   $p\leq 0,001$   $n=48$ ). Las hembras melánicas permanecieron mayor cantidad de tiempo en la caja y el sector de los machos agutí que en las mismas regiones de los machos melánicos, aunque esta diferencia al igual que la que exhibieron las

hembras agutí no alcanza el nivel de significación estadística (Fig. IV-2). Sin embargo al considerar el comportamiento del conjunto de las hembras frente a los machos de ambos colores de pelaje, resulta significativa la preferencia hacia los machos agutí evidenciada a través del mayor tiempo de permanencia tanto en las cajas (Wilcoxon  $Z= 2,071$   $p= 0,038$ ) como en el sector de éstos (Wilcoxon  $Z=2,31$   $p=0,020$ ) (Fig. IV-3)



**Figura IV-3.** Tiempo de permanencia de las hembras (n=48) en los diferentes sectores del dispositivo en las pruebas de preferencia de apareamiento (Prueba de Wilcoxon , \*  $p\leq 0,05$ )

La comparación entre ambos grupos de hembras, revela algunos parámetros capaces de discriminar su comportamiento, basados en las frecuencias de entrada a algunas regiones del sistema donde las hembras agutí exhiben valores significativamente mayores a los de las hembras melánicas: a caja del macho melánico ( Prueba Mann-Whitney  $Z= 2,079$   $p= 0,39$ ) y sectores de ambos machos (Prueba Mann-Whitney  $Z= 2,133$   $p= 0,033$  sector agutí;  $Z= 2,247$   $p= 0,016$  sector melánico), además del tiempo que exploran el túnel del macho melánico (Prueba Mann-Whitney  $Z= 2,154$   $p= 0,031$ ) (Fig. IV-4).



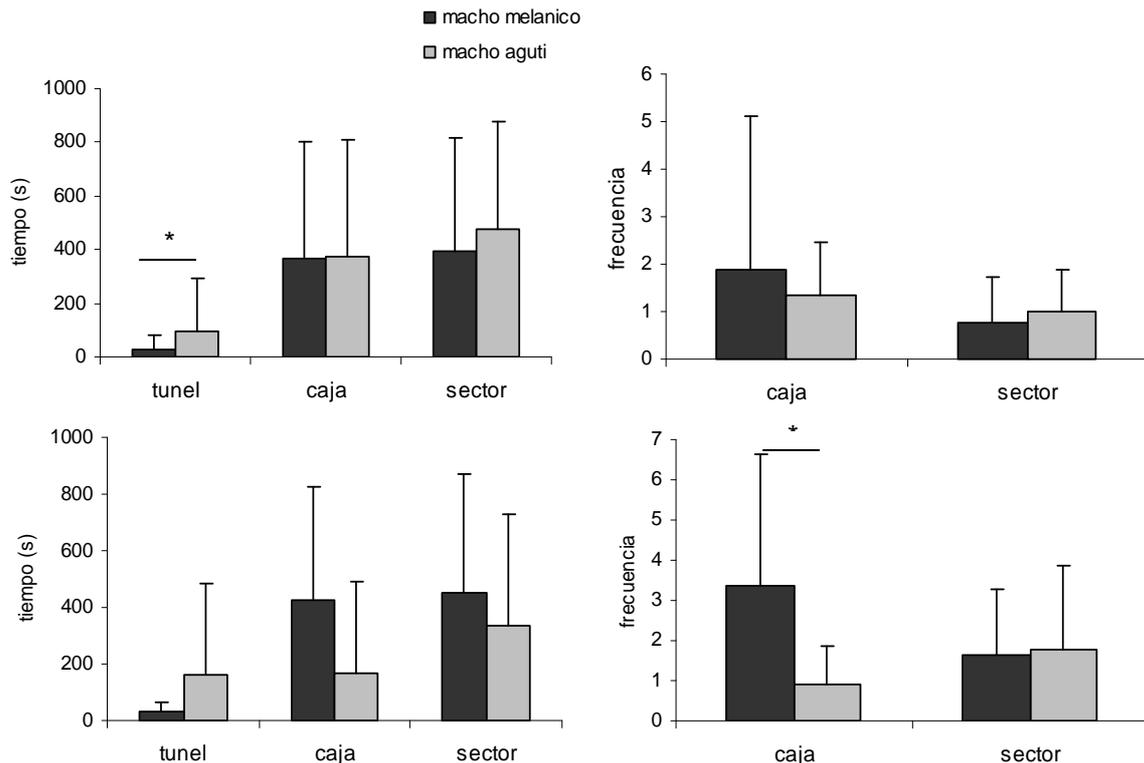
**Figura IV-4.** Comparación entre la actividad de las hembras melánicas vs. agutí en las pruebas de preferencia durante la estación reproductiva ( 2002-2003). Se indican las diferencias estadísticamente significativas (Prueba de Mann Whitney \*  $p \leq 0,05$ ).

#### Pruebas de preferencia con hembras en estro – 2004

En este grupo de hembras se observa un alto porcentaje que no explora la totalidad del dispositivo experimental y permanece en el sector de uno de los machos (55,5% de las hembras melánicas y 53,8% de las agutís). Estos valores son más altos que los que surgen de las pruebas anteriores, pero ambas comparten la gran variabilidad en el comportamiento de las hembras como revelan los altos valores de desvío estándar en todos los parámetros considerados. Con excepción de una, las hembras permanecen significativamente más tiempo en el sector de los machos que en la porción neutral del sistema (Prueba Wilcoxon  $Z=3,97$   $p \leq 0,001$ ).

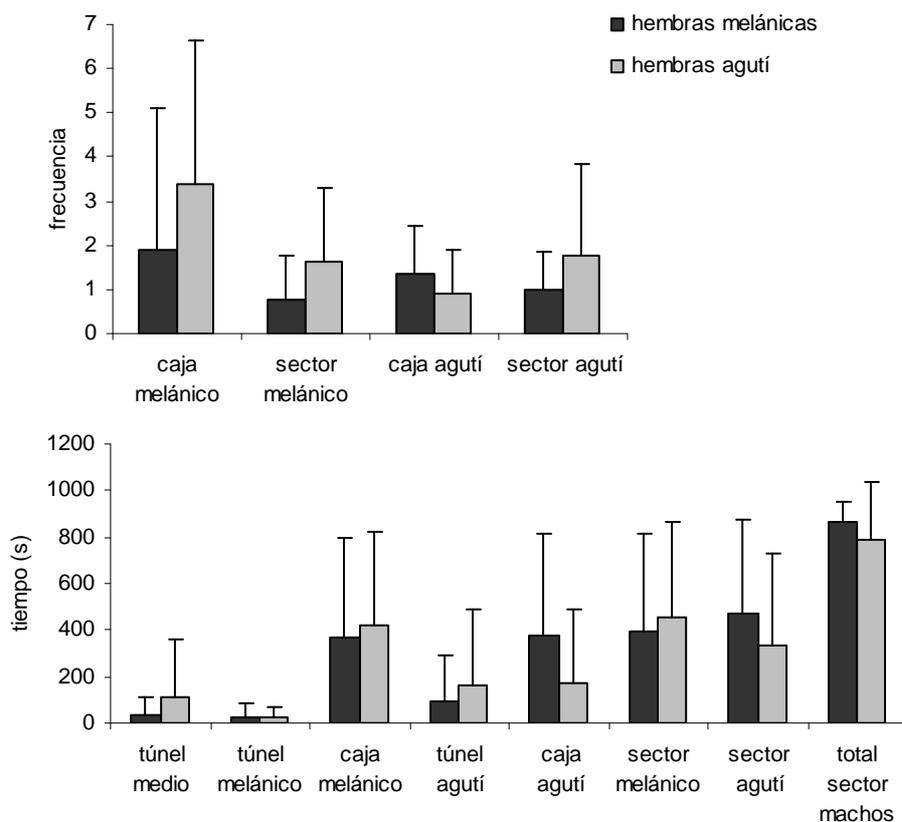
El conjunto de las hembras melánicas exhibe diferentes valores en relación al tiempo dedicado a visitar el sector y caja de cada macho, pero permanece más tiempo en el tubo

del macho agutí que en el del melánico (Prueba Wilcoxon  $Z=1,954$   $p=0,05$   $n=9$ ). La tendencia opuesta es exhibida por las hembras agutí, que a pesar de que dedican más tiempo a la exploración del sector del macho melánico las diferencias no llegan a poseer significación estadística. Sin embargo la diferencia en la frecuencia de entrada a la caja del macho melánico, en estas hembras es significativa (Prueba Wilcoxon  $Z=2,039$   $p=0,041$   $n=13$ ) (Fig. IV-5).



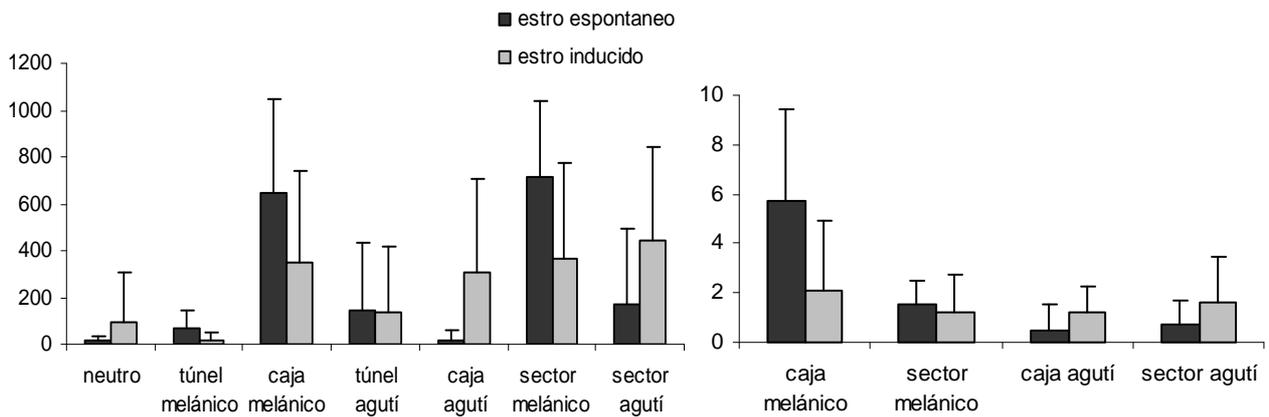
**Figura IV-5.** Representación del tiempo (columna izquierda) y la frecuencia (columna derecha) de las hembras en estro melánicas ( $n= 9$ , arriba) y agutí ( $n=13$ , abajo) en las pruebas de preferencia. Se indica  $x\pm de$  y las diferencias estadísticamente significativas (Wilcoxon para muestras pareadas \*  $p\leq 0,05$ )

Las hembras agutí presentan niveles más altos de frecuencia de entrada a diferentes porciones del sistema: a la caja del macho melánico, al sector de ambos machos, mientras que las hembras melánicas entran más frecuentemente a la caja del macho agutí, sin que estas diferencias lleguen a ser estadísticamente significativas (Fig. IV-6). El conjunto de las hembras en estro con las que se realizaron las experiencias ( $n=22$ ) no exhibió preferencias frente a los machos de diferente coloración de pelaje (Prueba de Wilcoxon,  $p>0,05$ )



**Figura IV-6.** Hembras en estro melánicas (n=9) vs. agutí (n=13) con respecto a la frecuencia de entrada (arriba) y al tiempo de permanencia (abajo) en las diferentes porciones del dispositivo durante las pruebas de preferencia ( $\bar{x} \pm de$ )

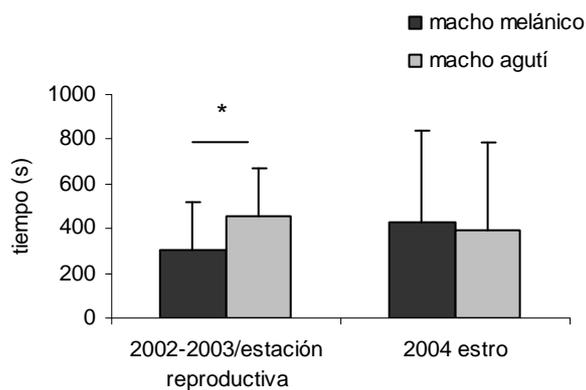
Al separar las hembras que presentaron el estro espontáneamente previo a la prueba, de las que fueron inducidas hormonalmente, aparecen marcadas diferencias entre el comportamiento de ambos grupos aunque el bajo número de las primeras impide someterlas a comprobación estadística. Bajo esta salvedad, las hembras con estro espontáneo exhiben preferencia por los machos melánicos, tanto en los tiempos de permanencia en la caja y el sector correspondiente, como en la frecuencia de entradas a la caja. Las hembras inyectadas, entran y dedican más tiempo a las cajas de los machos melánicos, pero si se considera además el túnel adyacente, se invierten los valores tanto de tiempo como de frecuencia a favor de los machos agutí (Fig. IV-7)



**Figura IV-7.** Comparación entre las hembras con estró espontáneo (n=4) y estró inducido (n=18) tanto en el tiempo de permanencia (izquierda) como en la frecuencia de visita (derecha) a los diferentes sectores del sistema en las pruebas de preferencia ( $\bar{x} \pm de$ )

### Comparación entre pruebas

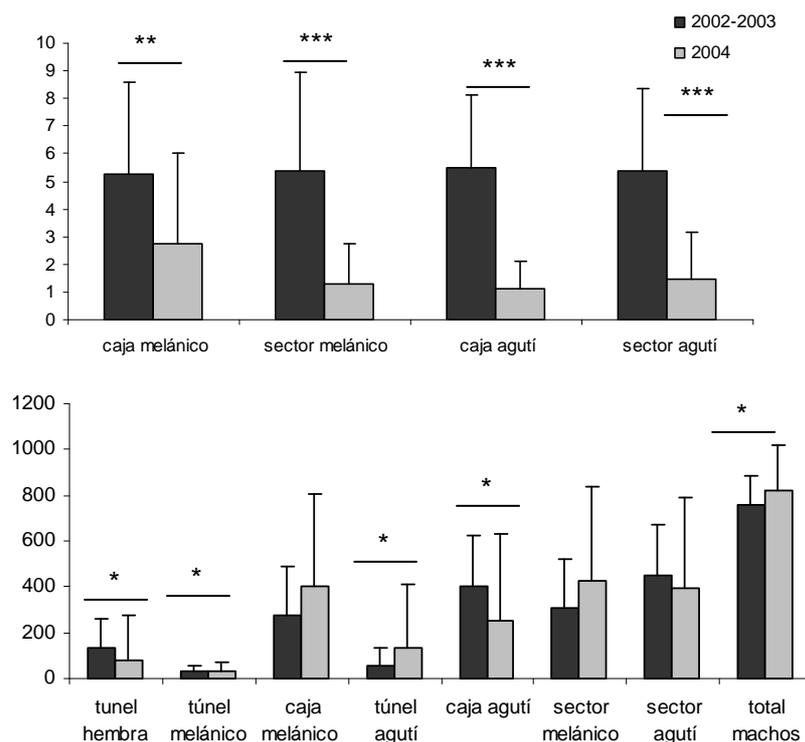
Los resultados netos de las pruebas realizadas en 2002-2003 durante la estación reproductiva en el "laboratorio de campo" y las del 2004 con las hembras en estró, vinculadas al tiempo de permanencia en el sector de los machos de cada fenotipo, revelan al visualizarse conjuntamente (Fig. IV-8) que mientras en la primera temporada las preferencias se inclinan a favor de los machos agutí (Prueba de Wilcoxon  $Z=2,31$   $p=0,020$ ), en diferentes condiciones de experimentación no se produce elección preferencial en ningún sentido.



**Figura IV-8.** Resultado neto de las pruebas de preferencia de las hembras en dos condiciones diferentes, cuantificadas a través del tiempo de permanencia en el sector de los machos de cada fenotipo (\*  $p \leq 0,05$ , Prueba de Wilcoxon)

Las hembras que realizaron las pruebas de preferencia durante las estaciones reproductivas 2002 y 2003, desplegaron significativamente niveles más altos de exploración del sistema experimental que las hembras en estro de las pruebas del 2004, evidenciado a través diferencias en las frecuencias de entrada todas las regiones del dispositivo (Prueba Mann-Whitney caja melánico  $z=2,99$   $p=0,003$ , caja agutí  $z=5,77$   $p\leq 0,001$ , sector melánico y agutí  $z=5,00$   $p\leq 0,001$ ) (Fig. IV-8).

Sin embargo, las hembras en estro permanecen significativamente más tiempo en el túnel de los machos agutí (Prueba Mann Whitney  $Z=2,43$   $p=0,015$ ), y menos en el de los machos melánicos (Prueba Mann Whitney  $Z=2,25$   $p=0,024$ ) que sus pares de las pruebas anteriores. Aunque éstas dedican más tiempo a las cajas de los machos agutí (Prueba Mann Whitney  $Z=2,66$   $p=0,007$ ) la comparación entre tiempo de ambos grupos en el sector de cada uno de los machos, no aparece significativamente diferente. Sin embargo las hembras en estro permanecieron mayor cantidad de tiempo en el sector de los machos (caja y túnel de ambos machos) (Prueba Mann Whitney  $Z= -4,11$   $p\leq 0,001$ ) (Fig. IV-9).



**Figura IV-9.** Comparación entre las pruebas realizadas en 2002-2003 (hembras en período reproductivo,  $n=48$ ) y las realizadas en 2004 (hembras en estro  $n=22$ ) con respecto a la frecuencia de entrada (arriba) y al tiempo de permanencia (abajo) en los diferentes sectores del dispositivo experimental. Se indica exclusivamente las comparaciones estadísticamente significativas (\*  $p \leq 0,05$  \*\*  $p \leq 0,01$  \*\*\*  $p \leq 0,001$  Prueba Mann Whitney )

## DISCUSIÓN

---

Debido a que las hembras invierten más que los machos en cada intento reproductivo, están sometidas a mayor presión de selección a favor de realizar una adecuada elección de pareja. Como en la mayoría de los mamíferos, los machos no proveen cuidados a las crías y en este caso tampoco defienden recursos alimenticios que puedan ser críticos para las hembras, de tal manera que las preferencias de apareamiento se sustentan en la elección de “buenos genes” (Fisher 1930, Zahavi 1975, Andersson 1994).

La interpretación de los resultados obtenidos se centrará en la comparación tanto de las experiencias realizadas en diferentes condiciones, como de las pautas comportamentales desplegadas por las hembras de diferente color del pelaje. Se discutirá además la incidencia de los diferentes canales comunicativos en los mecanismos que determinan las preferencias de apareamiento.

Las hembras agutí y melánicas de la población dimórfica para el color del pelaje, durante la época reproductiva no muestran inversión diferencial respecto al tiempo que dedican a permanecer cerca de los machos de cada fenotipo. Sin embargo al agruparlas, se consolida la tendencia que exhiben por separado y aparece elección preferencial por los machos agutí. Asimismo, no se registró preferencia en las hembras que cursaron las pruebas en estado de estro. Estos resultados, aparentemente contradictorios, admiten varias interpretaciones. A pesar de la inherente variabilidad individual del comportamiento, la inclinación de las hembras a preferir a los machos agutí se mantiene en forma constante e independiente, en las experiencias realizadas en el campo en dos años consecutivos. Aunque puede argumentarse que, separadas en función del color del pelaje las hembras no demuestran preferencias, que surjan al considerarlas conjuntamente, indica una tendencia que se produce en el mismo sentido en ambos grupos, pero no alcanza en cada uno, a expresarse de manera significativa. Numerosas investigaciones registran patrones diferentes de elección en las hembras, en función de su estado reproductivo (Clarke y Faulkes 1999, Pillay 2000). En este sentido, el resultado más confiable estaría dado por la homogeneidad en el estado fisiológico-reproductivo de las hembras, frente a aquellos donde más allá de la estación reproductiva, esta variable no fue controlada individualmente. Por otro lado, el traslado y mantenimiento en cautiverio por períodos prolongados, produce estrés y probablemente, consecuente modificación de las pautas de conducta. Además, la inducción al estro mediante inyección de hormonas, implicó una

manipulación adicional en las hembras. El efecto del cautiverio en los machos se comprueba a través de la disminución de los niveles de testosterona en sangre y orina, con la consecuente influencia en el comportamiento de las hembras (Gottreich et al. 2000) básicamente al ser considerados en estas pruebas como estímulo para la elección.

Si bien la receptividad probada a partir de la ocurrencia de cópula en hembras con estro inducido, garantiza la motivación reproductiva de las mismas, los bajos niveles de actividad durante las pruebas y de exploración del dispositivo experimental, cuestionan la aceptación absoluta de esta premisa. No obstante, la ejecución de las pruebas de preferencia en el laboratorio de campo, con ejemplares de captura reciente y durante un corto período en la estación reproductiva, establece condiciones experimentales más uniformes acerca del estado fisiológico general de los animales. En resumen, aunque la inducción hormonal permitió el control sobre el estado reproductivo de las hembras, en las circunstancias en que se llevaron a cabo las pruebas se generó también una pérdida importante de estandarización de las condiciones experimentales, vinculada principalmente a la variabilidad en el estado general de los animales.

Los datos obtenidos, por lo tanto, demuestran que los apareamientos no están sesgados en función de elecciones homocromáticas, sino que los machos agutí son preferidos por las hembras de ambos fenotipos, en base a los criterios adoptados en estas experiencias.

Surge entonces la misma pregunta, acerca de cómo se mantiene el polimorfismo cromático en esta especie. Los estudios de campo advierten mayores tasas de predación sobre los individuos melánicos que agutí (Vasquez 2003, Capítulo I), mientras estas experiencias de laboratorio demuestran que las hembras en su conjunto, prefieren a los machos agutí. En este sentido tanto la selección natural, mediante una fuerte presión de predación, inclusive sobre adultos, como la selección sexual, a través de las preferencias de apareamiento de las hembras, estarían operando en contra del fenotipo melánico. Encontrar la respuesta a esta interrogante implica investigar algunos aspectos en profundidad, como por ejemplo la eficiencia reproductiva en cuanto a tamaño de camada y viabilidad de las crías en las hembras de los dos pelajes, comprobar experimentalmente la predación diferencial sobre los fenotipos, y complementar con el análisis de los resultados netos de los apareamientos, a través de la determinación del parentesco entre individuos. Investigaciones vinculadas a la dinámica poblacional han evidenciado tanto la acción de la selección en algunos caracteres, como importantes posibilidades de acción de la deriva genética local (D'Elía et al. 1998, Wlasiuk et al. 2003). En este sentido, análisis con

marcadores microsatelitales, determinaron subdivisión intrapoblacional (Wlasiuk et al. 2003), pero los sesgos de apareamiento no pueden ser explicados simplemente por la estructuración espacial, debido a que el parentesco entre individuos en esta primera aproximación, es independiente de la distribución en el espacio a escala microgeográfica (Wlasiuk et al. 2001)

Otro aspecto interesante a abordar se refiere a las pautas comportamentales diferenciales desplegadas por las hembras en las experiencias “de campo”. La tendencia a mayor frecuencia de entrada de las hembras agutí al conjunto de regiones del sistema, que alcanza validez estadística en los sectores de los machos, indica niveles más altos de actividad dentro del dispositivo en relación a las melánicas. Esta diferencia en la tasa de exploración, posiblemente esté correlacionada con las variaciones en los parámetros del cortejo, analizados en el capítulo anterior, en el sentido de que las parejas agutí también desplegaron mayor número de ciclos de cópula e intercópula, a la vez que permanecieron activos durante períodos más prolongados que los melánicos. Como se discutió anteriormente, estudios acerca del gen agutí, sugieren que independientemente de las especies, las mutaciones que producen melanismo tienen efectos pleiotrópicos, asociados principalmente a aspectos metabólicos, fisiológicos, neuroendócrinos y comportamentales. Tanto en *Rattus* como en *Peromyscus*, los individuos de fenotipo melánico son, por ejemplo, menos activos y agresivos que sus pares agutí (Hayssen 1997, 2002). Si bien las diferencias entre los morfos agutí y melánico en parámetros del comportamiento sexual pueden atribuirse tanto a características propias de cada pelaje, como a diferencias poblacionales producto de la divergencia genética en aislamiento (Wlasiuk et al. 2003), los distintos niveles de actividad exhibidos por las hembras de cada fenotipo no pueden ser asignados a este último factor, ya que provienen de la misma población. En este sentido, estas variaciones en pautas comportamentales podrían indicar la expresión diferencial de caracteres en función del color del pelaje, ajustándose tanto a la hipótesis de “fenotipos alternativos” (West-Eberhard, 1986) como al posible efecto pleiotrópico del gen agutí.

Los dispositivos en Y son generalmente utilizados en pruebas de preferencia entre dos opciones, tanto en especies subterráneas como cursoriales (Patris y Baudoin 1998 Gottreich et al. 2000, Pillay 2000). En general, la exploración de las diferentes regiones del dispositivo, la permanencia por más tiempo en el sector de los machos que en la región neutral, indicador del interés por los estímulos presentados, validan el diseño experimental. Además dentro del sistema de cajas y tubos, los animales desplegaron su repertorio comportamental habitual. El laberinto diseñado y construido específicamente

para estas experiencias, transparente, con piezas separadas, intercambiables y tabiques removibles enteros o perforados, permitió la realización de las experiencias en el campo, la observación de los animales durante la prueba y también modificar el acceso a diferentes regiones de acuerdo a las sucesivas fases del ensayo. La utilización de este dispositivo en pruebas de selectividad en otro contexto han resultado exitosas (Pereira en prensa), demostrando que experiencias de interacción social y uso del espacio pueden llevarse a cabo adaptando este sistema de túneles.

El diseño del laberinto de experimentación con sus tabiques perforados separando a la hembra de los machos, permitió el intercambio de estímulos visuales, químicos o acústicos, impidiendo únicamente el contacto directo entre ambos. Aunque la ausencia de luz en las cuevas impone restricciones al uso de estímulos visuales en las interacciones individuales que tienen lugar en su interior, los tucu-tucus no han perdido capacidad visual (Francescoli 2000) como ocurre en otras especies de animales fosoriales, inclusive con drástica reducción y atrofia de los ojos. En base a esto y debido a que las experiencias se llevaron a cabo en túneles transparentes y con luz artificial (de baja intensidad pero suficiente como para lograr el registro en video), no se puede descartar que señales visuales estén implicadas en el resultado de las pruebas de preferencia. No se observó en ningún caso despliegue de pautas agresivas y tampoco se registraron vocalizaciones durante el desarrollo de las pruebas.

La percepción de señales químicas se ha documentado dentro del género *Ctenomys* (Zenuto y Fanjul 2002, Fanjul et al. 2003, Zenuto et al. 2004, Schwanz y Lacey 2003) y en especies de otros taxones subterráneos (Clarke y Faulkes 1999, Heth y Tondrak 1995) como una fuente de información sobre la que los individuos son capaces de reconocer y discriminar entre coespecíficos, entre sexos e inclusive entre diferentes estados reproductivos. Como este tipo de señales poseen la ventaja de perdurar en el tiempo, principalmente si son depositadas en el sustrato a través de orina, fecas o secreciones de glándulas especializadas, la presencia de los machos, durante estas experiencias, en sus cajas de prueba con viruta proveniente de los correspondientes terrarios de mantenimiento, se consideró apropiado para que los rastros químicos se mantuvieran y fueran percibidos por la hembra. En *Heterocephalus glaber*, Clarke y Faulkes (1999) demostraron que las hembras son capaces de discriminar entre diferentes individuos frente a la presencia de machos vivos aun detrás de una barrera, pero no mostraron interés a fuentes de olor a las que no podían acceder, asegurando que estas pistas químicas actuarían exclusivamente a corta distancia. La presencia de una glándula

perineal en *C. rionegrensis* (Altuna y Corte 1992), así como la observación de pautas comportamentales vinculadas tanto a la marcación por medio del arrastre de la zona anogenital, como a la percepción de estas señales a través del frotamiento del hocico contra el sustrato (hociqueo) por parte de machos y hembras en el laboratorio, evidencia la importancia de la comunicación química en esta especie y la posible intervención del órgano vomeronasal en la recepción de estos estímulos.

Durante el cortejo, los machos invierten gran parte del tiempo en la estimulación táctil de las hembras, de manera tal que buena parte de la comunicación sexual, se establece mediante este canal. En las pruebas de preferencia donde se utilizan animales vivos como estímulo, se evita que los ejemplares entren en contacto entre sí, con el fin de minimizar la influencia de diferentes variables (Patris y Baudoin 1998, Pillay 2000, Parker et al. 2001), condición que impidió en este caso, que la comunicación táctil estuviera involucrada en la elección. Poder establecer las bases comunicativas sobre las que se sustentan las preferencias y la influencia relativa de cada uno de los canales, se plantea como una perspectiva interesante y complementaria a los resultados obtenidos.

El solapamiento de las áreas de actividad entre hembras adultas, la captura de hembras lactantes con otros individuos no emparentadas, y los altos niveles de movilidad en esta población, así como la ausencia de agregaciones donde un macho monopolice el acceso a hembras circundantes, establece un escenario donde las hembras cumplen un papel activo, quizá en la búsqueda, pero seguramente en la elección de la pareja. Además, la alta densidad de población y la tolerancia frente a la presencia de coespecíficos, posibilitan la ocurrencia de interacciones individuales complejas. En este sentido la biología reproductiva de las hembras con ciclos estrales cortos y reiterados durante la época reproductiva y ovulación refleja, generan la posibilidad de que el cortejo desplegado por el macho con una importante carga de estimulación, sincronice la respuesta sexual, y que sea utilizado por las hembras como indicador de calidad reproductiva. Por lo tanto profundizar en el conocimiento de la estructura social y el sistema de apareamiento que resultan de las condiciones ecológicas determinadas por el ecotopo subterráneo y de las interacciones entre los individuos, permitirá entender mejor los mecanismos que subyacen a la elección de pareja.

---

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

---

Este trabajo constituye la primera investigación en una especie de tucu-tucus del Uruguay, en la que se integra el análisis de la estructura poblacional y las interacciones sociales emergentes, la estacionalidad reproductiva con la descripción del ciclo estral de las hembras, la caracterización del comportamiento sexual y los sesgos de apareamiento a través de las preferencias de las hembras. Desde el punto de vista metodológico, se incorpora la aproximación a la dinámica de la población mediante captura, marcaje y recaptura, y la determinación de los patrones de uso del espacio a través del monitoreo remoto con radiotelemetría. Consideramos el desarrollo del diagnóstico de la condición reproductiva con técnicas citológicas, como un elemento destacado de esta investigación, que seguramente será incorporado en el futuro a la rutina de trabajo de campo y laboratorio. En el mismo sentido, el protocolo de inducción al estro con inyección hormonal, permitirá controlar una variable determinante en los estudios de comportamiento sexual y estrategias reproductivas. El diseño de un sistema estandarizado de cajas y túneles transparentes para observación, experimentación y registro de comportamiento, constituye un aporte importante, en el mismo sentido que la provisión de condiciones adecuadas para mejorar la sobrevivencia de los animales en cautiverio, habilitan la proyección de nuevas investigaciones en etología.

El trabajo sostenido sobre una misma población durante cuatro años permitió establecer aspectos de la biología general de esta especie desconocidos hasta el momento y comprobar otros sobre los que existían sospechas sin una base empírica firme.

La captura múltiple de juveniles y adultos no emparentados, las áreas de actividad solapadas entre individuos y alta tolerancia a la presencia de coespecíficos, sostienen la idea de que esta población exhibe un patrón de uso del espacio diferente al de los tucu-tucus solitarios y territoriales. Postulamos entonces el uso compartido de sistema de galerías en una modalidad intermedia aún no reportada en roedores subterráneos, donde las áreas de actividad se superponen en grado variable, pero los individuos mantienen el nido como sitio de uso exclusivo. Será necesario extender las observaciones en este sentido para poder precisar la naturaleza de este sistema social y su variación en el tiempo.

El mayor tamaño corporal de los machos y la proporción sexual sesgada hacia las hembras son buenos indicadores de la competencia masculina por el acceso a las parejas. La distribución temporal asincrónica de la receptividad en las hembras favorece la monopolización de los apareamientos aumentando la intensidad de la selección intrasexual, y habilitando el establecimiento de sistemas de apareamiento poligínicos. En un escenario como el que postulamos, donde el sistema de galerías es compartido y la presencia de coespecíficos es altamente tolerada, el control directo de las parejas no parece ser económicamente defendible, aumentando la probabilidad de que ocurran apareamientos múltiples. Además, el importante papel de la estimulación táctil en el cortejo y la cópula, sumado a la condición de ovulación refleja de las hembras, generan las condiciones para que puedan establecerse mecanismos de competencia espermática y de elección oculta. En este sentido, el aborto provocado por la presencia o inclusive el olor de un macho, demuestra que están presentes las bases fisiológicas para la instalación de estos procesos.

Por otro lado, los diferentes patrones en el comportamiento de cortejo y cópula en las formas agutí y melánica se consideran un resultado destacable de amplias consecuencias. Primero, sustentan fuertemente la posibilidad de que el melanismo sea causado por un alelo del tipo "non-agouti", ya que las consecuencias comportamentales que produce en otros roedores (Hayssen 1997, Haysen et al. 2002), son coincidentes con las documentadas en este estudio. Los efectos pleiotrópicos de este alelo, podrían estar determinando también iguales tendencias en la conducta de las hembras durante las pruebas de preferencia respecto a las tasas de actividad de las dos variantes cromáticas. Segundo, el aislamiento geográfico de cada una de las poblaciones monomórficas pudo haber favorecido la fijación de estos patrones conductuales asociados al color del pelaje y la consecuente divergencia en el comportamiento de ambos fenotipos. Tercero, la variabilidad intraespecífica en caracteres vinculados a la reproducción, y principalmente aquellos que, por estar involucrados en los sistemas de reconocimiento de pareja pueden ser sexualmente seleccionados, juega un papel crítico en los procesos de diferenciación poblacional.

Los sesgos reproductivos, generadores del desequilibrio Hardy-Weinberg anteriormente reportado, no se explican por apareamientos homocromáticos preferenciales ni a través de un patrón de aislamiento por distancia. Las preferencias manifestadas por el conjunto de las hembras hacia los machos agutí y la evidencia indirecta que indica mayor presión de

depredación sobre los individuos melánicos, colocan nuevamente la interrogante inicial en el centro de la discusión. De todas maneras, la profundización del conocimiento de aspectos fundamentales de la historia de vida de estos organismos, generado en esta tesis, es un avance importante hacia la búsqueda de las respuestas. El desarrollo de este trabajo, ha generado además, una serie de nuevas preguntas que anticipan un espectro muy amplio de futuras investigaciones, algunas de las cuales dejamos planteadas a continuación.

El monitoreo mediante radiotelemetría en un número superior de animales, durante períodos más prolongados y en diferentes épocas del año, es imprescindible para establecer si existen diferencias en el uso del espacio, vinculadas a la estacionalidad reproductiva. Conjuntamente, la determinación del parentesco entre núcleos de individuos que comparten un sistema de galerías o solapan en diferente grado sus áreas de actividad, permitirá conocer las bases de la filopatría en esta población. A redondear este aspecto, contribuirá determinar el grado de dispersión natal y movilidad de individuos adultos en la población, con un trabajo de campo que mantenga la estrategia de captura, marcaje y recaptura de todos los individuos en áreas adyacentes. Además, se debería analizar la estructuración poblacional a una escala aún mayor, considerando la distribución espacial a nivel de cada uno de los pelajes, para evaluar otras hipótesis de diferenciación de la población en base a fenotipos con adecuaciones diferentes, como el modelo propuesto por Payne y Krakauer (1997). Consideramos como un punto importante constatar, a través de experiencias de campo, y posiblemente con modelos de animales, los niveles de depredación a que está sometida cada una de las formas cromáticas.

Desde el punto de vista comportamental, surge la necesidad de analizar los patrones de cortejo y cópula en las poblaciones polimórficas, mediante enfrentamientos homo y heterocromáticos, a fin de establecer si las diferencias que exhiben las poblaciones “puras” se mantienen asociadas a la coloración del pelaje. En este sentido, definir los sesgos reproductivos netos, mediante la determinación de los coeficientes de parentesco en todos los individuos de la población, permitirá inferir con precisión la ocurrencia de múltiple paternidad. La presencia de este patrón implicaría además el análisis de sus consecuencias a nivel del sistema de apareamiento y de las estrategias reproductivas individuales.

Es necesario comparar experimentalmente el grado de tolerancia exhibido por individuos de esta especie frente a otros del mismo o diferente sexo con los tenores de agresión de

individuos de especies estrictamente solitarias, con el objetivo de establecer correlación entre la conducta vinculada a la exclusión territorial y la estructura social. La profundización del conocimiento de la capacidad de las hembras de discernir entre crías propias y ajenas, aporta en la misma dirección.

La influencia de las variables ambientales en el establecimiento de la estacionalidad reproductiva, puede determinarse en experiencias de laboratorio mediante el manejo de la temperatura y el fotoperíodo. En la misma línea de trabajo, es importante esclarecer el patrón de actividad diario en los individuos de esta especie y su vinculación con el estado reproductivo y los estímulos ambientales.

Los canales comunicativos implicados en las preferencias de apareamiento de las hembras y la importancia relativa de cada uno de ellos en la búsqueda y encuentro de la pareja son aspectos relevantes a conocer. Continuar con el análisis de las señales vibratorias, permitirá profundizar el conocimiento de las variantes cromáticas y de los canales de comunicación implicados, no sólo en la elección de pareja, sino también en la estructuración espacial. El estudio de la capacidad de discriminar entre sexos y/o individuos en base a olores, feromonas y en última instancia el MHC, al complementarse con los datos genéticos-moleculares, permitirá reconocer los mecanismos en que se sustenta la organización social, el sistema de apareamiento y los patrones de dispersión que determinan el tipo de filopatría predominante.

Entender o al menos aproximarse a comprender sistemas complejos, es posible solamente si son explorados mediante abordajes múltiples, conjugando diferentes metodologías y áreas disciplinares.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Altosor P. 2006. Comportamiento agonístico del tucu.tucu *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia, Octodontidae) en los enfrentamientos macho-hembra a lo largo del año. Pasantía en Etología. Facultad de Ciencias, Montevideo.
- Altman J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 49:227-267
- Altuna C.A. 1991. Microclima de cuevas y comportamientos de homeostasis en una población del grupo *Ctenomys pearsoni* del Uruguay (Rodentia, Octodontidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay* (2ª época) 6:35- 46.
- Altuna C.A. y Corte S.1989. La glándula perineal de *Ctenomys pearsoni* y *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia, Octodontidae) del Uruguay. *Brenesia* 28:33-39.
- Altuna C.A. y González E. 2006. Owl predation on the subterranean rodent *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae) in Uruguay, with an assesment of relative age classes. *Museo de Historia Natural y Antropología* 203 (13):1-5.
- Altuna C.A. y Lessa E.P. 1985. Penial morphology in Uruguayan species of *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae). *Journal of Mammalogy* 66:483-488.
- Altuna C.A., Francescoli G.y Izquierdo G. 1991. Copulatory pattern of *Ctenomys pearsoni* (Rodentia: Octodontidae) from Balneario Solís, Uruguay. *Mammalia* 55:316-318.
- Altuna C.A., Izquierdo G. y Tassino B. 1993. Análisis del comportamientode excavación en dos poblaciones del complejo *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Octodontidae). *Actas V Reunión Iberoamericana de Conservación y Zoología de Vertebrados* 275-282.
- Altuna C. A., Ubilla M. y Lessa E.P. 1985. Estado actual del conocimiento de *Ctenomys rionegrensis* Langguth y Abella, 1970 (Rodentia, Octodontidae). *Actas de las Jornadas de Zoología del Uruguay*, 8-9
- Altuna C.A., Francescoli G., Tassino B. y Izquierdo G. 1999. Ecocetología y conservación de mamíferos subterráneos de distribución restringida: el caso de *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Octodontidae) en el Uruguay. *Etología* 7:47-54.
- Altuna C.A., Bacigalupe L. y Corte S. 1998. Food-Handling and feces reingestion in *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Ctenomyidae). *Acta Theriologica* 43:433-437.
- Andersen D.C. 1978.Observations on reproduction, growth, and behavior of the northern pocket gopher (*Thomomys talpoides*). *Journal of Mammalogy* 59:418-422.
- Andersen D.C. y Mac Mahon J.A. 1981. Population dynamics and bioenergetic of fossorial herbivore *Thomomys talpoides* (Rodentia: Geomyidae), in a spruce-fir sere. *Ecological Monographs* 51:179-202.
- Anderson S., Yates T.L. y Cook J.A. 1987. Notes on Bolivian mammals 4: The genus *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) in the eastern lowlands. *American Museum Novitates*, 2891:1-20.
- Andersson M. 1994. Sexual selection. Princeton University Press, Princeton.

- Andersson M. y Iwasa Y. 1996. Sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 11:53-58.
- Andersson M. y Simmons L. 2006. Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology and Evolution* 21:296-302
- Balbontin J., Reig O. y Moreno S. 1996. Evolutionary relationships of *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae) from Argentina, based on penis morphology. *Acta Theriologica* 41: 237-253
- Barlow J.C. 1969. Observations on the biology of rodents in Uruguay. *Life Sciences Contributions. Royal Ontario Museum* 75: 1-59.
- Barraclough T.G. y Nee S. 2001. Phylogenetics and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* 16:391-399.
- Basolo A. 1990. Female preferences for male sword length in the green swordtail *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae). *Animal Behaviour* 40:332-338.
- Basolo A. 1996. The phylogenetic distribution of a female preference. *Systematic Biology* 45:290-307.
- Basolo A. 2004. Variation between and within the sexes in body size preferences. *Animal Behaviour* 68:75-82
- Bateman A.J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2:349-368
- Bennett N.C. 1989. The social structure and reproductive biology of the common mole-rat *Cryptomys h. hottentotus* and remarks on the trends in reproduction and sociality in the family Bathyergidae. *Journal of Zoology, London* 219:45-59
- Bennett N.C y Jarvis J.U.M. 1988a. The social structure and reproductive biology of colonies of the mole-rat *Cryptomys damarensis* (Rodentia, Bathyergidae). *Journal of Mammalogy* 69:293-302
- Benett N.C. y Jarvis J.U.M. 1988b. The reproductive biology of the Cape mole-rat, *Georychus capensis* (Rodentia: Bathyergidae). *Journal of Zoology, London* 214:95-106.
- Bennett N., Faulkes C. y Molteno A. 2000. Reproduction in subterranean rodents. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. EA Lacey, JL Patton and GN Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Bignami G. y Beach F. 1968. Mating behavior in the chinchilla. *Animal Behavior* 16:45-54.
- Birkhead T.R. y Parker G.A. 1997. Sperm competition and mating systems. En: *Behavioural Ecology. An evolutionary approach*. J.R. Krebs and N.B. Davies. Blackwell Science, Oxford.
- Birkhead T.R y Moller A.P. 1993. Why do male birds stop copulating while their partners are still fertile? *Animal Behavior* 45:105-118.
- Boake C. 2000. Flying apart: mating behavior and speciation. *BioScience* 50: 501-508
- Bougham J. W. 2001. Divergent sexual selection enhances reproductive isolation in sticklebacks. *Nature* 411:944-947.
- Bronson F. 1985. Mammalian reproduction: an ecological perspective. *Biology of Reproduction* 32:1-26.

- Bronson F. 1989. Mammalian reproductive biology. University Chicago Press, Chicago
- Bruce H.M. 1959. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184:105
- Buffenstein R. 2000. Ecophysiological responses of subterranean rodents to underground habitats. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Burda H. 1989. Reproductive biology (behaviour, breeding and postnatal development) in subterranean mole-rats, *Cryptomys hottentotus* (Bathyergidae). *Z. Säugetierkunde* 54:360-379.
- Busch C., Antinuchi C.D., del Valle J.C., Kittlein M.J., Malicia A.I., Vasallo A.I. y Zenuto R.R. 2000. Population ecology of subterranean rodents. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Busch C., Malizia A., Scaglia O. y Reig O. 1989. Spatial distribution and attributes of a population of *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Mammalogy* 70:204-208.
- Butlin R y Ritchie M. 1994. Behaviour and speciation. En: *Behaviour and Evolution*. P.J. Slater y T.R. Halliday eds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Camín S. 1999. Mating behaviour of *Ctenomys mendocinus* (Rodentia, Ctenomyidae). *Z. Säugetierkunde* 64:230-238.
- Camín S.R. y Madoery L.A. 1994. Feeding behavior of the tuco-tuco (*Ctenomys mendocinus*): its modifications according to food availability and the changes in the harvest pattern and consumption?. *Revista Chilena Historia Natural* 67:257-263
- Caro T. 2005. The adaptive significance of coloration in mammals. *BioScience*. 55:125-136
- Castillo A. H., Cortinas M. N. y Lessa E. P. 2005. Rapid diversification of subterranean South American tuco-tucos (genus *Ctenomys*, Rodentia, Ctenomyidae): contrasting mitochondrial and nuclear intron sequences. *Journal of Mammalogy* 86:170-179
- Clarke F.M y Faulkes C.G. 1999 Kin discrimination and female mate choice in the naked mole-rat *Heterocephalus glaber*. *Proceedings Royal Society, London B: Biological Sciences* 256:1995-2002
- Clutton Brock T.H. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings Royal Society, London B: Biological Sciences* 236:339-372
- Comparatore V.M., Cid M.S. y Busch C. 1995. Dietary preferences of two sympatric subterranean rodent populations in Argentina. *Revista Chilena Historia Natural* 68:197-206.
- Conaway C.H. 1971. Ecological adaptation and mammalian reproduction. *Biology of reproduction* 4:239-247
- Cook J.A, Anderson S. y Yates T. 1990. Notes on Bolivian Mammals and the Genus *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) in the Highlands. *American Museum Novitates* 2980:1-27.
- Cook J.A. y Lessa E.P. 1998. Macroevolutionary patterns of diversification in subterranean rodents: The case of South American tuco-tuco (Rodentia, Octodontidae). *Evolution*, 52:1521-1527.

- Cook J.A., Lessa E.P. y Hadly E.A. 2000. Paleontology, phylogenetic patterns and macroevolutionary processes in subterranean rodents. En: Life underground: the biology of subterranean rodents. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Corrada Y. y Gobello C. 2001. Citología vaginal en la perra. *Selecciones Veterinarias*, 9 (5): 454-474.
- Courchamp F., Clutton Brock T. y Grenfell B. 1999. Inverse density dependence and the Allee effect. *Trends in ecology and Evolution* 14: 405- 410.
- Coyne J. 1987. Genetics and speciation. *Nature* 355:511-515.
- Coyne J.A y H.A. Orr. 2004 *Speciation*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. U.S.A.
- Crews D. y Moore M. 1986. Evolution of mechanism controlling mating behavior. *Science* 231: 121-125
- Cutrerera A., Antinuchi C. y Busch C. 2003. Thermoregulatory development in pups of the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Physiology and Behavior* 79:321-330.
- Dacar M., Monge S., Brengio S. y Roig V. 1998. Estudio histológico en gónadas de *Ctenomys mendocinus* en la localidad de Cacheuta (Mendoza, Argentina). *Mastozoología Neotropical* 5(1):13-19
- Darwin C. 1871. *The descendent of Man in relation to Sex*. Murray, London. (Versión en español 1973: *El Origen del hombre*. Albatros, Buenos Aires)
- Davies N. 1991. Mating systems. En: *Behavioural Ecology An evolutionary approach*. J.R. Krebs y N.B. Davies eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- D'Elía G. 1996. Posición filogenética y dinámica poblacional del roedor subterráneo *Ctenomys rionegrensis*. Tesis de Maestría, PEDECIBA, Montevideo.
- D'Elía G., Lessa E.P. y Cook J.A. 1998. Geographic structure, gene flow, and maintenance of melanism in *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia: Octodontidae). *Z. Säugetierkunde* 63:285-296.
- D'Elía G., Lessa E. P. y Cook J. A. 1999. Molecular phylogeny of tuco-tucos, genus *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae): evaluation of the mendocinus species group and the evolution of asymmetric sperm. *Journal of Mammalian Evolution*, 6:19-38.
- D'Elía G., Ubilla M. y Altuna C.A 1992. Características discriminantes y morfofuncionales de la pelvis en poblaciones de *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae) del Uruguay. *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay (2ª época)* 7: 41- 42.
- del Valle J.C., Lohfelt M.I., Comparatore V. y Busch C. 2001. Feeding selectivity and food preference of *Ctenomys talarum* (tuco-tuco) *Mammalian Biology* 66:165-173
- Dewsbury D.A. 1972. Patterns of copulatory behavior in male mammals. *The Quarterly Review of Biology* 47:1-33.
- Dewsbury D.A. 1975. Diversity and adaptation in rodent copulatory behavior. *Science* 190: 947-954.
- Dewsbury D.A. 1988. Copulatory behavior as courtship communication. *Ethology* 79: 219-234.

- Diamon M. 1970. Intromission pattern and species vaginal code in relation to induction of pseudopregnancy. *Science* 169: 995-997.
- Dobzhansky T. 1951. *Genetics and the Origin of Species*. (Third edition) Columbia University Press, New York.
- Ebensperger L. 2001. A review of the evolutionary causes of rodent group-living. *Acta Theriologica* 46:115-144
- Ebensperger L. 2002. Restricciones fisiológicas y la evolución de la socialidad en roedores. En *fisiología ecológica y evolutiva. Teoría y casos de estudios en animales*. F. Bozinovic ed. Ediciones Universidad Católica de Chile.
- Eberhard W.G. 1996. *Female Control: sexual selection by cryptic female choice*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Elliot J.M. 1983. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. Freshwater Biological Association, Scientific publication N° 25
- Emlen S.T. y Oring L.W. 1977. Ecology, sexual selection and the evolution of mating systems. *Science* 197:215-223
- Endler J.A. 1978. A predator's view of animal colour patterns. *Evolutionary Biology* 11: 319-364
- Endler J.A. y Basolo A.L. 1998. Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* 13:415-420.
- Fagen R.M. y Mankovich N.J. 1980. Two-act transitions, partitioned contingency tables, and the "significant cells" problem. *Animal Behaviour* 28: 1017-1023.
- Fanjul M., Zenuto R. y Busch C. 2003. Use of olfaction for sexual recognition in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Acta Theriologica* 48(1):35-46.
- Fanjul M.S., Zenuto R. y Busch C. en prensa. Seasonality of breeding in wild tuco-tucos *Ctenomys talarum* in relation to climate and food availability. *Acta Theriologica* 51.
- Ferkin M.H., Sorokin E.S. y Jhonston R.E. 1996. Self-grooming as a sexually dimorphic communicative behaviour in meadow voles *Microtus pennsylvanicus*. *Animal Behaviour* 51: 801-810.
- Fisher R. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Dove, New York.
- Fournier F., Thomas D.W y Garland T. 1999. A test of two hypotheses explaining the seasonality of reproduction in temperate mammals. *Functional Ecology* 13:523-529
- Francescoli, G. 1998. La comunicacion acústica en poblaciones de *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae) de Uruguay, con algunas consideraciones sobre el uso del canal "vibratorio" por los roedores subterráneos. Tesis de Doctorado PEDECIBA, Montevideo
- Francescoli, G. 1999. A preliminary report on the acustic communication in uruguayan *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae): basic sound types. *Bioacustics* 10: 203-218.
- Francescoli G. 2000. Sensory capabilities and communication in subterranean rodents. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.

- Francescoli G. 2002. Geographic variation in vocal signals of *Ctenomys pearsoni*. *Acta Theriologica* 47: 35-44.
- Gazit I. y Terkel J. 2000. Reproductive behavior of the blind mole-rat (*Spalax ehrenbergi*) in seminatural burrow system. *Canadian Journal of Zoology* 78: 570-577.
- González-Valcarse B. 1991. Análisis multivariante, aplicación al ámbito sanitario. S.G eds, Barcelona.
- Gottreich A., Zuri I., Barel S., Hammer H. y Terkel J. 2000. Urinary testosterone levels in the male blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*) affect female preference. *Physiology and Behavior* 69:309-315
- Gross M. 1996. Alternative reproductive strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends in Ecology and Evolution*, 11(2): 92-98
- Harrison R. 1998. Linking evolutionary pattern and process: the relevance of species concepts for the study of speciation. En: *Endless forms. Species and Speciation*. Howard, D. y S. Berlocher eds. Oxford University Press, New York.
- Hayssen V. 1997. Effects of the nonagouti coat-color allele on behavior of deer mice (*Peromyscus maniculatus*): a comparison with Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Journal Comparative Physiology* 111:419-423.
- Hayssen V. 2001. Body and organ mass in agouti and non-agouti deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 130:311-321.
- Hayssen V., Harper J.M y DeFina R. Fecal corticosteroids in agouti and non-agouti deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 132:439-446
- Herbst M., Jarvis J.U.M y Bennett N. A field assessment of reproductive seasonality in the threatened wild Namaqua dune mole-rat (*Bathyergus janetta*). *Journal of Zoology, London* 263: 259-268
- Heth G. y Todrank J. 1995. Assessing chemosensory perception in subterranean mole rats: different responses to smelling versus touching odorous stimuli. *Animal Behaviour* 49: 1009-1015.
- Heth G., Frankenberg E. y Nevo E. 1988. "Courtship" call of subterranean mole rats (*Spalax ehrenbergi*): Physical analysis. *Journal of Mammalogy* 69: 121-125.
- Heth G., Beiles A. y Nevo E. 1988. Adaptive variation of pelage color within and between species of the subterranean mole rat (*Spalax ehrenbergi*) in Israel. *Oecologia* 74: 617-622
- Heymer A. 1982. *Diccionario etológico*. Omega, Barcelona
- Hickman G.C. 1982. Copulation of *Ctenomys hottentotus* (Bathyergidae), a fossorial rodent. *Mammalia* 46: 293-298.
- Hoffman E.A y Blouin M. 2000 A review of colour and pattern polymorphisms in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society* 70:633-665
- Huxley J. 1939. *The living thought of Darwin*. Longmans & Green, London. (Versión española, 1943: *El pensamiento vivo de Darwin*. Losada, Buenos Aires).

- Ims R.A. 1990. The ecology and evolution of reproductive synchrony. *Trends in Ecology and Evolution* 5:135-140
- Isaac J. 2005. Potential causes and life-history consequences of sexual size dimorphism in mammals. *Mammal Review* 35:101-115.
- Izquierdo G. 1998. Descripción y análisis cuantitativo de las cuevas de *Ctenomys* en tres poblaciones del Uruguay (Rodentia, Octodontidae). Pasantía en Etología. Facultad de Ciencias, Montevideo
- Izquierdo G., Altuna C.A., Bacigalupe L. y Tassino B. 1998. Variación de las construcciones en relación a la calidad de hábitat en tres poblaciones uruguayas de *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Ctenomyidae). Resúmenes de las XIII Jornadas Argentinas de Mastozoología, Misiones.
- Jackson C. y Bennett N. 2005. Is the natal mole-rat (*Cryptomys hottentotus natalensis*) a spontaneous or induced ovulator?. *Journal of Mammalogy* 86:1-6.
- Jarvis J.U.M. 1981. Eusociality in a mammal: cooperative breeding in naked mole-rat colonies. *Science* 212: 571-573
- Jiggins C.D., Naisbit R.E. Coe, R.L. y Malet J. 2001. Reproductive isolation caused by color pattern mimicry. *Nature*, 411:302-305.
- Kelt D.A. y Gallardo M.H. 1994. A new species of tuco-tuco, genus *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomys) from Patagonia, Chile. *Journal of Mammalogy* 75:338-348.
- Kingston J., Rosenthal G., y Ryan M.J. 2003. The role of sexual selection in maintaining a colour polymorphism in the pygmy swordtail, *Xiphophorus pygmaeus*. *Animal Behaviour* 65: 735-743.
- Kirkpatrick M. 1982. Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution* 36: 1-12.
- Kirkpatrick M. 1987. Sexual selection by female choice in polygynous animals. *Annual Reviews of Ecology and Systematics* 18:43-70.
- Kirkpatrick M. y Ryan M. J. 1991. The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature* 350:33-38.
- Kleiman D.G. 1974. Patterns of behaviour in hystricomorph rodents. *Symposium Zoology Society of London*. 34: 171-209.
- Kraus C., Trillmich F. y Künkele J. 2005. Reproduction and growth in a precocial small mammal, *Cavia magna*. *Journal of Mammalogy* 86:763-772.
- Krebs J. R. y N. B. Davies.1984. *An Introduction to Behavioural Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Kunkele J. y Trillmich F. 1997. Are precocial young cheaper? Lactation energetics in the guinea pig *Physiological Zoology* 70: 589-596
- Lacey E.A. 2000. Spatial and social systems of subterranean rodents. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.

- Lacey E. y Wieczorek J. 2003. Ecology of sociality in rodents: a ctenomyid perspective. *Journal of Mammalogy* 84:1198-1211
- Lacey E.A., Braude S. y Wieczorek J. 1997. Burrow sharing by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*) *Journal of Mammalogy* 78: 556-562
- Lacey E.A., Braude S. y Wieczorek J. 1998. Solitary burrow use by adult Patagonian tuco-tucos (*Ctenomys haigi*). *Journal of Mammalogy* 79: 986-991
- Lacey E., Patton J. y Cameron G. 2000. *Life underground: the biology of subterranean rodents*. University of Chicago Press. Chicago USA.
- Lagomarsino J.C. y Momigliano E. 1961. Estudio histológico del aparato genital femenino de *Ctenomys torquatus* ("tucu-tucu"). Facultad de Humanidades y Ciencias, Departamento de Biología General y Experimental, Universidad de la República, Montevideo.
- Lande R. 1981. Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 78:3721- 3725.
- Lande R. y Kirkpatrick M. 1988. Ecological speciation by sexual selection. *Journal of Theoretical Biology* 133:85-98.
- Langguth A. y Abella A. 1970a. Las especies uruguayas del género *Ctenomys*. *Comunicaciones Zoológicas Museo Historia Natural, Montevideo*, 10:1-27.
- Langguth A. y Abella A. 1970b. Sobre una población de tuco-tucos melánicos (Rodentia-Octodontidae). *Acta Zoológica Lilloana*, 28: 101-108
- Langkilde T. y Shine R. 2006. How much stress do researchers inflict on their study animals? A case study using a scincid lizard, *Eulamprus heatwolei*. *Journal of Experimental Biology* 209: 1035-1043.
- Lehner P. 1996. *Handbook of Ethological methods*. Cambridge University Press.
- Lessa E.P. y Cook J.A. 1998. The molecular phylogenetics of tuco-tucos (genus *Ctenomys*: Rodentia, Octodontidae) suggests an early burst of speciation. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 88-99
- Lessa E.P., Wlasiuk G. y Garza J.C. 2005. Dynamics of genetic differentiation in the Rio Negro tuco-tuco (*Ctenomys rionegrensis*) at the local and geographical scales. En: *Mammalian Diversification. From chromosomes to phylogeography (A celebration of the career of James L. Patton)* E. Lacey y P. Myers eds. University of California Publications in Zoology, vol 133., Berkeley, California.
- Magurran A.E. 1998. Population differentiation without speciation. *Philosophical Transactions Royal Society B, London* 353: 275-286
- Malherbe G., Schoeman A. y Bennett, N. Is the highveld mole-rat *Cryptomys hottentotus pretoriae* (Rodentia: Bathyergidae) an induced or spontaneous ovulator?. *Journal Zoology, London* 263:159-165.
- Malizia A.I. 1998 Population dynamics of the fossorial rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae) *Journal Zoology, London* 244:545-551
- Malizia A. y Busch C. 1991. Reproductive parameters and growth in the fossorial rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Mammalia* 55(2):296-305.

- Malizia A., Vassallo A. y C. Busch 1991. Population and habitat characteristic of two sympatric species of *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). *Acta Theriologica* 36: 87-94
- Marquez A. 2006. Estudio de la variabilidad genética y las relaciones de parentesco en una población del tucu-tucu *Ctenomys rionegrensis*. Pasantía en Evolución. Facultad de Ciencias, Montevideo
- Martin P. y Bateson P. 1991. La medición del comportamiento. Alianza Universidad Editorial, Madrid.
- Mayr E. 1963. Population, Species and Evolution. Harvard University Press.
- McNab B.K. 1966. The metabolism of fossorial rodents: a study of convergence. *Ecology* 47:712-733.
- McNab B.K. 1979. The influence of body size on the energetics and distribution of fossorial and burrowing mammals. *Ecology* 60:1010- 1021.
- Nachman M.W., Hoestra H. y D'Agostino S. 2003. The genetic basis of adaptive melanism in pocket mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 5268-5273
- Nelson R. J. 1995. An Introduction to Behavioral Endocrinology. Sinauer Associates, Inc.
- Nevo E. 1979. Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. *Ann Rev Ecol Syst* 10: 269- 308.
- Nevo E. 1995. Mammalian evolution underground. The ecological-genetic-phenetic interfaces. *Acta Theriologica* 3: 9-31.
- Nordborg M. 2000. Coalescent theory. En: *Handbook of statistical genetics*. D.J. Balding, M.J. Bishop y C. Cannings eds. Editorial
- Novello A. y Altuna C.A. 2002. Cytogenetics and distribution of two new karyomorphs of the *Ctenomys pearsoni* complex (Rodentia, Octodontidae) from southern Uruguay. *Mammalian Biology* 67: 188-192
- Novello A. y Lessa E.P. 1986. G-band homology in two karyomorphs of the *Ctenomys pearsoni* complex (Rodentia, Octodontidae) of neotropical fossorial rodents Z. *Saugetierkunde* 51: 378-380
- Novello A., Lessa E.P., Sambarino C y Monzón S. 1990. Chromosomal variation in two populations of the genus *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae) from Uruguay. *Z. Saugetierkunde* 55:43-48
- Odling-Smee F.J. Niche-constructing phenotypes. En: *The role of behaviour in evolution*. H.C. Plotkin ed. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts.
- Odling-Smee F.J., Laland K.N y Feldman M. 2003. Niche construction: the neglected process in Evolution (Monographs in Population Biology). Princeton University Press, Princeton
- O'Donald P. 1962. The theory of sexual selection. *Heredity* 17:541- 552
- Ortells M. 1995. Phylogenetic analysis of G-banded karyotypes among the South American subterranean rodents of the genus *Ctenomys* (Caviomorpha: Octodontidae), with special reference to chromosomal evolution and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society*. 54:43-70

- Panhuis T. M., Butlin R., Zuk M. y Tregenza T. 2001. Sexual selection and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* 16:364- 371.
- Parada, A. 2003. Análisis de parentesco dentro de una población de *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia: Octodontidae) polimórfica en el color de pelaje, empleando microsatélites, Pasantía en Evolución, Facultad de Ciencias, Montevideo.
- Parker G.A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Review* 45:525-567
- Parker K.J., Phillips K.M y Lee T.M. 2001. Development of selective partner preferences in captive male and female meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Animal Behaviour* 61:1217-1226
- Passos C. 2003 Cortejo y cópula en una población melánica de *Ctenomys rionegrensis*. Trabajo de pasantía, profundización en Evolución. Pasantía en Etología, Facultad de Ciencias, Montevideo
- Paterson H. E. 1985. The recognition concept of species. En: *Species and Speciation*. Vrba S. ed. Transvaal Museum Monograph N° 4, Pretoria.
- Patris B. y Baudoin C.1998. Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour* 56:1465-1470
- Patton J.L. y Feder J.H. 1981. Microspatial genetic heterogeneity in pocket gophers: non-random mating and drift. *Evolution* 35:912-920
- Patton J.L. y Smith T.B. 1990. The evolutionary dynamics of the pocket gopher *Thomomys bottae*, with emphasis on California populations. University of California Publications, Zoology 123:1-161
- Payne R. J y Krakauer D.C.1997. Sexual selection, space, and speciation. *Evolution* 51: 1-9.
- Pearson O.P. 1959. Biology of the subterranean rodents, *Ctenomys* in Perú. *Memorias Museo Historia Natural "Javier Prado"*, Lima Perú, 9: 1-56.
- Pearson O.P. 1983. Characteristics of a mammalian fauna from forest in Patagonia, Southern Argentina. *Journal of Mammalogy* 64: 476- 492.
- Pearson O., Binsztein N., Boiry L., Busch C., Di Pace M., Gallopin G., Penchaszadeh P. y Piantanida M. 1968. Estructura social, distribución espacial y composición por edades de una población de tuco-tucos (*Ctenomys talarum*). *Investigaciones Zoológicas Chilenas* 8:47-80.
- Pearson O.P.y Christie M.I. 1985. Los tuco-tucos (género *Ctenomys*) de los Parques Nacionales Lanin y Nahuel Huapi, Argentina. *Historia Natural* 5: 337-343.
- Pepper J.W., Braude S.H., Lacey E.A y Sherman P.W.1991. Vocalizations of the naked mole-rat. En: *The biology of the naked mole-rat*. Sherman, P.W., J.U.M Jarvis y R.D. Alexander, eds. Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Pereira M. En prensa. Nonselective maternal bonding but pup-recognition in the subterranean rodent *Ctenomys pearsoni*. *Journal of Comparative Psychology*. 120 (3)

- Pillay N. 2000. Female mate preferences and reproductive isolation in populations of the striped mouse *Rhabdomys pumilio*. *Behaviour* 137:1431-1441
- Pillay N., William K., Meester J., y Cookie J. 1995. Evidence of pre-mating reproductive isolation in two allopatric popula of the vlei rat, *Otomys irroratus*. *Ethology*.
- Price T. 1998. Sexual selection and natural selection in bird speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 353:251-260.
- Reichman O.J. y Seabloom W. 2002. The role of pocket gophers as subterranean ecosystem engineers. *Trends in Ecology and Evolution* 17:44-49
- Reig O.A. 1970. Ecological notes on the fossorial octodontid rodent *Spalacopus cyanus* (Molina). *Journal of Mammalogy*, 51:592-601.
- Reig O.A., Busch C., Ortells M.O. y Contreras J.R. 1990. An overview of molecular evolution, systematics, population biology, cytogenetics, molecular biology and speciation in *Ctenomys*. En: *Evolution of subterranean mammals at the organismal and molecular levels*. E. Nevo and O. A. Reig eds., Alan R. Liss, New York.
- Romañach S., Reichman O. y Seabloom W. 2005. Seasonal influences on burrowing activity of a subterranean rodent, *Thomomys bottae*. *Journal of Zoology*, London. 266:319-325.
- Rood J.P. 1972. Ecological and behavioural comparison of three genera of argentine cavies. *Animal Behaviour Monographs* 5: 1-83.
- Rosi M.I, Cona, M y Roig V. 2002. estado actual del conocimiento del roedor fosorial *Ctenomys mendocinus* Philippi 1869 (Rodentia: Ctenomyidae). *Mastozoología Neotropical* 9: 277.295
- Rosi M., Puig S., Videla F., Cona M., Roig V. 1996. Ciclo reproductivo y estructura etaria de *Ctenomys mendocinus* (Rodentia, Ctenomyidae) del Piedemonte de Mendoza, Argentina. *Ecología Austral* 6:87-93
- Rosi M., Puig S., Videla F., Madoery L. y Roig V. 1992. Estudio ecológico del roedor subterráneo *Ctenomys mendocinus* en la precordillera de Mendoza, Argentina: ciclo reproductivo y estructura etaria. *Revista Chilena de Historia Natural* 65: 221-233.
- Rundle H.D., Nagel L., Boughman, J. y Schluter, D. 2000. Natural selection and parallel speciation in sympatric sticklebacks. *Science*, 287:306-308.
- Ryan M. J. 1990. Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 7:156-195.
- Sampson S. D. 1999. Sex and destiny: the role of mating signals in speciation and macroevolution. *Historical Biology* 13:173-197.
- Schramm P. 1961. Copulation and gestation in the pocket gopher. *Journal of Mammalogy* 42: 167-170.
- Schleich C.E. y Busch C. 2002. Acoustic signals of a solitary subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae):physical characteristics as behavioural correlates. *Journal of Ethology* 20: 123-131
- Schluter, D. 1996. Ecological causes of adaptative radiations. *American Naturalist*, 148:40-60.

- Schluter D. 1998. Ecological Causes of Speciation. En: Endless forms: species and speciation. Howard, D. J. Howard and S. H. Berlocher eds. Oxford University Press, Oxford.
- Schutler D. 2001. Ecology and the origin of species. Trends in Ecology and Evolution. 16:372-380
- Schneider J.C., Smith T.B., Larison B. y Moritz C. 1999. A test of alternative models of diversification in tropical rainforests: ecological gradients vs. rainforest refugia. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96: 13869-13873.
- Schwanz L. y Lacey E. 2003. Olfactory discrimination of gender by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*). Mammalian Biology 68:53-60.
- Seehausen O., van Alphen J.J.M. y Witte F. 1997. Cichlid fish diversity threatened by eutrofication that curbs sexual selection. Science, 277: 1808-1811.
- Seehausen O., Witte F., van Alphen J.J.M., y Bouton N. 1998. Direct mate choice maintains diversity among sympatric cichlids in lake Victoria. Journal Fish Biology 53: 37-55.
- Shanas U. y Terkel J. 1996. Grooming secretions as seasonal adaptations in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*) Physiology and Behavior 60: 653-656
- Shanas U. y Terkel J. 1997. Mole-rat harderian gland secretions inhibit aggression. Animal Behaviour, 54: 1255-1263.
- Shanas U. Heths G., Nevo E., Shalgi R. and Terkel J. 1995. Reproductive behaviour in the female blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). Journal Zoology, London, 237: 195-210.
- Sherman P.W, Reeve H y Pfenning D. 1997. Recognition Systems. En: Behavioural Ecology. An evolutionary approach. J.R. Krebs and N.B. Davies. Blackwell Science, Oxford.
- Shuster S. y Wade M. 2003. Mating systems and strategies. Princeton University Press, Princeton.
- Slater P.J.B. 1975. Describing sequences of behavior. En: Perspectives in Ethology P. Bateson and P.H. Klopfer, eds. Plenum Press, New York
- Slater P.J.B. 2000. El comportamiento animal. Cambridge University Press.
- Slamovits C.H., Cook J.A., Lessa E.P. y Rossi M.S. 2001. Recurrent amplifications and deletions of satellite DNA accompanied chromosomal diversification in South American tuco-tucos (genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae): a phylogenetic approach. Molecular Biology and Evolution, 18:1708-1719.
- Slatkin M. 1993. Gene flow and population structure. En: Ecological genetics. L.A. Real ed., Princeton.
- Smolen M., Genoways H. y Baker R. 1980. Demographic and reproductive parameters of the yellow-cheeked pocket gopher (*Pappogeomys castanops*). Journal of Mammalogy 61:224-236.
- Snyman P., Jackson C. and Bennett N. 2005. Do dispersing non-reproductive female Damaraland mole-rats, *Cryptomys damarensis* (Rodentia: Bathyergidae) exhibit spontaneous or induced ovulation?. Physiology and Behavior

- Sodersten P y Hansen S. 1979. Induction of sexual receptivity by oestradiol benzoate in cyclic female rats: influence of ovarian secretions before injection of oestradiol benzoate. *Journal of endocrinology* 80: 389-395
- Sodersten P, Eneroth P y Hansen S. 1981. Induction of sexual receptivity in ovariectomized rats by pulse administration of oestradiol-17 beta. *Journal of endocrinology* 89:55-62
- Sokal R.R. y Rohlf F.J. 1994 *Biometry*. W.H. Freeman ed (3th. Edition)
- Soutullo A., Limiñana R., Urios V, Surroca M y Gill J. 2006 Density-dependent regulation of population size in colonial breeders: alle and buffer effects in the migratory Montagu's harrier. *Oecologia* (on line).
- Stephens P.A. y Sutherland W.J. 1999. Consequences of the Allee effect for behaviour, ecology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 14:401-405
- Stein B. 2000. Morphology of subterranean rodents. En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Steinberg E.K y Patton J.L. 2000. Genetic structure and the geography of speciation, En: *Life underground: the biology of subterranean rodents*. E.A. Lacey, J.L. Patton and G.N. Cameron, eds. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Stockley P. y Preston B.T. 2004. Sperm competition and diversity in rodent copulatory behaviour. *Journal evolutionary Biology*. 17: 1048-1057.
- Sumbera R., Chitaukali W.N., Elichova M, Kubova J. y Burda H. Microclimatic stability in burrows of an Afrotropical solitary bathyergid rodent, the silvery mole-rat (*Heliophobus argenteocinereus*). *Journal Zoology*, London 263: 409-416
- Sutherland W. 1996. *Ecological census techniques*. Cambridge University Press.
- Tassino, B. 1992. Organización y análisis cuantitativo del cortejo en una población del grupo *Ctenomys pearsoni* (Rodentia: Octodontidae). Trabajo de pasaje de curso, Sección Etología, Facultad de Ciencias.
- Tassino, B. 1999. Ecología nutricional en un roedor herbívoro subterráneo: *Ctenomys pearsoni* (Rodentia, Octodontidae) del Uruguay. Tesis de Maestría, PEDECIBA, Montevideo
- Templeton A. 1989. The meaning of species and speciation: a genetic perspective. En: *Speciation and its consequences*. D. Otte y J. Endler eds. Sinauer, Sunderland.
- Tomasco I. 2003. Filogeografía del tucu-tucu *Ctenomys pearsoni*: variación del ADN mitocondrial y sus implicancias para la diferenciación cromosómica. Tesis de Maestría, PEDECIBA, Montevideo
- Tomasco I.H. y Lessa E.P. En prensa. Phylogeography of the tuco-tuco: mtDNA variation and its implication for chromosomal differentiation. En: *Quintessential naturalist: honoring the life and legacy of Oliver P. Pearson*. D.A. Kelt, E.P. Lessa, J.A. Salazar-Bravo and J.L. Patton, eds. University of California, Publications in Zoology.
- Touma C., Palme R. y Sachser N. 2001. Different types of oestrous cycle in two closely related South American rodents (*Cavia aperea* and *Galea musteloides*) with different social and mating systems. *Journal of Reproduction and Fertility* 121:791-801.

- Trivers R.L. 1972. Parental investment and sexual selection. En: Sexual selection and the Descent of Man 1871-1971. B. Campbell ed. Aldine, Chicago.
- Tuner G. F. y Burrow M. T. 1995. A model of sympatric speciation by sexual selection. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 260: 287-292.
- Turelli M., Barton N.H. y Coyne J.A. 2001. Theory and speciation. Trends in Ecology and Evolution 16:330-343
- Urrejola D., Lacey E., Wieczorek J. y Ebersperger L. 2005. Daily activity patterns of free-living cururos (*Spalacopus cyanus*) Journal of Mammalogy 86:302-308
- van Doorn G. S., Noest A. J. y Hogeweg P. 1998. Sympatric speciation and extinction driven by environment dependent sexual selection. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 265:1915-1919.
- van Sandwyk J.H y Bennett N. 2005. do solitary, seismic signalling Cape mole-rats (*Georchus capensis*) demonstrate spontaneous or induced ovulation?. Journal Zoology, London 26:75-80
- Vasquez A. 2003. Posible depredación diferencial sobre individuos agutís y melánicos de *Ctenomys rionegrensis*, reflejada en bolos de *Athene cunicularia*. Pasantía en Evolución. Facultad de Ciencias, Montevideo.
- Vassallo A.I., Kittlein M. y Busch C. 1994. Owl predation on two sympatric species of tuco-tucos (Rodentia, Octodontidae). Journal of Mammalogy 75: 725-732
- Veloso C. 2002. Energética reproductiva de pequeños mamíferos. En fisiología ecológica y evolutiva. Teoría y casos de estudios en animales. F. Bozinovic ed. Ediciones Universidad Católica de Chile.
- Verzi D.H. 2002. Patrones de evolución morfológica en Ctenomyidae (Rodentia: Octodontidae). Mastozoología Neotropical 9:309-328.
- Via S. 2001. Sympatric speciation in animals: the ugly duckling grows up. Trends in Ecology and Evolution 16: 381-390.
- Villar S., Martínez-López W., Folle G. y Novello A. 2005. Cytogenetic análisis of different *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae) species from Uruguay using G-banding. Mammalian Biology 70: 255-260
- Vleck D. 1979. The energy cost of burrowing by the pocket gopher *Thomomys bottae*. Physiological Zoology 52:122-136.
- Vleck D. 1981. Burrow structure and foraging costs in the fossorial rodent *Thomomys talpoides*. Oecologia 49: 391-396.
- Vrba E.S. y Gould S.J. 1986. The hiererchical expansion of sorting and selection: sorting and selection cannot be equated. Paleobiology 12: 217-228.
- Weinandy, R., Hofmann, S. and Gattermann, R. (2001). Mating behavior during estrus cycle in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). Mammalian Biology, 66: 116-120.
- Weir, B.J. 1974. Reproductive characteristics of Hystricomorph rodents. Symposium Zoology Society of London. 34: 265-301.

- Weir B.J y Rowlands I.W. 1974. Functional anatomy of the hystricomorph ovary. *Symo. Zool. Soc:* London 34: 303-332
- West-Eberhard M. J. 1983. Sexual selection, social competition and speciation. *Quaterly Review of Biology* 58: 155-183.
- West-Eberhard M.J. 1986. Alternative adaptation, speciation and phylogeny (a review). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 83: 1388- 1392.
- West-Eberhardt M.J. 2003. *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press
- Wlasiuk G., Garza J. C y Lessa E. P. 2003. Genetic and geographic differentiation in the Río Negro tuco-tuco (*Ctenomys rionegrensis*): inferring the roles of migration and drift from multiple genetic markers. *Evolution* 57: 913-926.
- Wlasiuk G., Tassino B. y Lessa E. 2001 Patrones de subdivisión poblacional en *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia, Octodontidae). Libro de Resúmenes XVI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Mendoza, Argentina.
- Wyatt T.D. 2003. *Pheromones and animal behaviour*. Cambridge University Press.
- Yahner R.H. 1978. The sequential organization of behaviour in *Tamias striatus*. *Behavioral Biology* 24: 229-243
- Zahavi A. 1975. Mate selection: a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 53: 205-214.
- Zar J.H. 1997. *Biiostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey.
- Zarrow M. y Clark J. 1968. Ovulation following vaginal stimulation in spontaneous ovulator and its implications. *Journal of Endocrinology* 40(3):343-352.
- Zenuto R. y Busch C. 1998. Population biology of the subterranean rodent (*Ctenomys australis*) (tuco-tuco) in a coastal dunefield in Argentina. *Mammalian Biology* 63:357-367.
- Zenuto R. y Fanjul M. 2002. Olfactory discrimination of individual scents in the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tuco). *Ethology* 108:629-641.
- Zenuto R., Antinuchi C. y Busch C. 2002. Bioenergetics of reproduction and pup development in a subterranean rodent (*Ctenomys talarum*). *Physiological and Biochemical Zoology* 75:469-478.
- Zenuto R., Fanjul M. y Busch C. 2004. Use of chemical communication by the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tuco) during the breeding season. *Journal of Chemical Ecology* 30(11):2111-2126.
- Zenuto R., Lacey E.y Busch C. 1999 a. DNA fingerprinting reveals polygyny in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Molecular ecology* 8:1529-1532.
- Zenuto R., Malizia A. y Busch C. 1999. Sexual size dimorphism, testes size and mating system in two populations of *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Natural History* 33:305-314.
- Zenuto R., Vasallo A. y Busch C. 2002. Comportamiento social y reproductivo del roedor subterráneo solitario *Ctenomy talarum* (Rodentia: Ctenomyidae) en condiciones de semicautiverio. *Revista Chilena de Historia Natural* 75:165-177.

*.... esto, naturalmente, resulta inquietante, y uno no sabe con certeza si la brújula está apuntando bien o no, pero la seguridad, la certidumbre y la paz no conducen a descubrimientos.*

*C. G Jung*