

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA  
PROGRAMA DE DESARROLLO DE CIENCIAS BÁSICAS  
ÁREA BIOLOGIA – SUB ÁREA GENETICA  
TESIS PARA ACCEDER AL DOCTORADO

**Uso de hábitat y estructura genética de la subespecie  
*Ozotoceros bezoarticus uruguayensis***

**Pautas para su conservación**

Mariana Cosse  
2010

Genética de la Conservación  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
"CLEMENTE ESTABLE"

TUTOR: Dr. Gustavo Folle  
CO-TUTORES: Dra. Susana González  
Dr. Jesús E. Maldonado

TRIBUNAL INTEGRADO POR:

Presidenta: Prof. Lic. Ekaterina Scvortzoff  
Vocal: Dra. Alicia Postiglioni  
Vocal: Dr. José Mauricio Barbanti Duarte  
Vocal: Dr. Don Moore

Aprobación de la tesis:

Uso de hábitat y estructura genética de la subespecie *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*: Pautas para su conservación

Tutor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Gustavo Folle  
Departamento de Genética  
IIBCE-MEC

Co-tutora:

\_\_\_\_\_  
Dra. Susana González  
Genética de la Conservación  
IIBCE-Facultad de Ciencias  
Universidad de la República

Co-tutor:

\_\_\_\_\_  
Dr. Jesús Maldonado  
Center for Conservation and Evolutionary Genetics  
Smithsonian Conservation Biology Institute  
National Zoological Park  
Washington-USA

Aprobada por:

---

Prof. Ekaterina Scvortzoff  
Genética-PEDECIBA  
Universidad de la República

---

Dra. Alicia Postiglioni  
Genética  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de la República

---

Dr. José Mauricio Barbanti Duarte  
Departamento de Zootecnia, FCAV/UNESP  
São Paulo State University  
Jaboticabal-SP-Brazil

---

Dr. Don Moore  
Associate Director for Animal Care  
Smithsonian Institute  
National Zoological Park  
Washington-USA

Montevideo, miércoles 8 de diciembre de 2010

*A Miranda y Julia*

## RESUMEN

La población de venado de campo Los Ajos (*Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*) representa una subespecie endémica del Uruguay catalogada como en “riesgo crítico de extinción” (UICN 2010). Para proponer pautas para su manejo y conservación es importante comprender los factores que determinaron la declinación poblacional.

El objetivo general de esta tesis fue caracterizar la estructura demográfica y genética de esta población y analizar su patrón de uso del ambiente. A su vez nos planteamos la comparación de estos aspectos con los observados en otras poblaciones de venado de campo.

La población Los Ajos está constituida por un 55% de hembras, un 34% de machos (total de adultos de 89%), 10% de juveniles y un 1% de crías. Este tipo de estructura es característica de las poblaciones que presentan una estrategia de vida del tipo K, donde el número de individuos se encuentra cercano a la capacidad de carga y hay una fuerte selección por los recursos. El análisis de la estructura social muestra que es una especie gregaria con una preferencia global por conformar grupos mixtos. El patrón de agregación-segregación sexual varía a lo largo del año. La segregación entre sexos coincide con el momento de los nacimientos, apoyando la hipótesis de segregación por riesgo de predación. El seguimiento de individuos adultos marcados con radio collares permitió establecer una fuerte fidelidad por el sitio de ocupación y consistencia en el grado de solapamiento interindividual en los dos años de monitoreo.

El análisis con marcadores moleculares determinó un grado mayor de relaciones de parentesco entre las hembras. Este patrón es el esperado para las especies que presentan hembras filopátricas, donde los machos se dispersan y son quienes introducen la variabilidad genética en el pool reproductor. Hallamos que esta población se aparta del equilibrio de Hardy-Weinberg, pero no presenta endogamia y la heterocigosidad tanto intra como inter-individual es elevada. El número efectivo estimado fue de 69 individuos, una cifra considerada como baja para asegurar la viabilidad poblacional en los próximos 100 años. No se observó evidencia de procesos de cuello de botella, pero sí se detectó un efecto fundador, fenómeno que se observa en poblaciones con tamaño poblacional fluctuante a lo largo del tiempo.

En la comparación entre poblaciones se detecta una correlación entre densidad y proporción de sexos, donde los ambientes con mejores pasturas presentan menor cantidad de machos por hembra. Esto nos estaría indicando un sistema de apareamiento de poliginia, donde la presencia de hembras está condicionada por la capacidad de carga del ambiente, mientras la de machos se establece por el acceso a las hembras (defensa del territorio).

Finalmente podemos concluir que la población Los Ajos presenta un grado importante de vulnerabilidad demográfica y genética que requiere priorizar el mejoramiento del hábitat y establecer un monitoreo demográfico y genético sistemático que permita determinar su tendencia en el tiempo, así como su respuesta a las variables ambientales.

## ABSTRACT

Los Ajos population is an endemic Uruguayan pampas deer subspecies (*Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*), listed as "critically endangered" (IUCN 2010). In order to propose guidelines for management and conservation, it is important to understand the factors that determined the population decline trends.

The objective of this thesis was to characterize the demographic and genetic structure of this population and to analyze patterns of habitat use. At the same time we performed comparisons with other pampas deer populations.

Los Ajos population consists 55% of females, 34% of males (total of adults: 89%), 10% of juveniles and 1% of offspring. This type of structure is characteristic of K species strategic, where the number of individuals is close to carrying capacity and there is a strong selection based on the resources. The social structure analysis showed that this is a gregarious species with a global preference for mixed groups. The sexual aggregation-segregation pattern varies throughout the year. Sexual segregation corresponds with the moment of birth, sustaining the hypothesis of segregation by predation risk. The analysis of the monitoring of adults radio collars tagged, showed site fidelity and consistency in the interindividual overlapping degree in the two years.

The molecular marker analysis determined a higher degree of kinship between females. This pattern is expected for species with female philopatry. The males dispersal behavior is responsible for generating genetic variability in the genetic pool. We found that this population deviates from Hardy-Weinberg equilibrium, but there is no inbreeding, and heterozygosity, has high levels at intra and inter-populations. The effective population number estimated was 69 individuals, considered low to ensure population viability over the next 100 years. No evidence of bottleneck processes was observed, but a phenomenon of founder effect was detected, usually observed in populations with fluctuating population sizes over the time.

In the comparison between populations, we detected a correlation between density and sex ratio, where the locations with best pastures have fewer males per female. This would indicate us the presence of a polygynous mating system, where the female's density is conditioned by the environment's carrying capacity, while the males presence depends upon the access to females.

Finally, we can conclude that Los Ajos population has a significant degree of demographic and genetic vulnerability that requires prioritizing the habitat availability and establishing being recommended a systematic demographic and genetic monitoring to be able to determine its trend over the time and its response to environmental variables.

## Tabla de contenido

|  |            |
|--|------------|
| <b>PREFACIO</b> .....  | <b>xiv</b> |
| <b>1 ANTECEDENTES</b> .....                                  | <b>15</b>  |
| 1.1 Evolución de los ciervos Sudamericanos .....             | 15         |
| 1.2 El venado de campo .....                                 | 21         |
| 1.2.1 Morfología y características biológicas .....          | 21         |
| 1.2.2 Subespecies .....                                      | 24         |
| 1.2.3 Distribución histórica y declinación poblacional ..... | 26         |
| 1.2.4 Venado de campo en Uruguay .....                       | 26         |
| 1.3 Objetivos .....  | 28         |
| 1.3.1 Objetivos específicos .....                            | 28         |
| 1.4 Material & Métodos .....                                 | 29         |
| 1.5 Área de estudio .....                                    | 29         |
| 1.6 Población Los Ajos .....                                 | 30         |
| 1.7 Análisis estadísticos .....                              | 31         |
| 1.8 Estructura de la tesis .....                             | 31         |
| 1.9 Bibliografía .....                                       | 32         |
| <b>2 ESTRUCTURA DEMOGRÁFICA</b> .....                        | <b>35</b>  |
| 2.1 Antecedentes y justificación .....                       | 35         |
| 2.1.1 Parámetros demográficos .....                          | 37         |
| 2.1.2 Estructura social y agrupamientos .....                | 39         |
| 2.1.3 Segregación sexual .....                               | 42         |
| 2.2 Objetivos .....  | 45         |
| 2.2.1 Objetivo general: .....                                | 45         |
| 2.2.2 Objetivos específicos: .....                           | 45         |
| 2.3 Material & Métodos .....                                 | 46         |
| 2.3.1 Metodología de los censos .....                        | 46         |
| 2.3.2 Evaluación de ejemplares capturados .....              | 46         |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 2.3.3    | Densidad .....   | 46         |
| 2.3.4    | Estructura demográfica.....                            | 47         |
| 2.3.5    | Estructura social.....                                 | 47         |
| 2.3.6    | Segregación sexual.....                                | 50         |
| 2.3.7    | Segregación espacial.....                              | 51         |
| 2.4      | Resultados.....  | 52         |
| 2.4.1    | Parámetros demográficos.....                           | 52         |
| 2.4.2    | Individuos capturados.....                             | 56         |
| 2.4.3    | Densidad en la población Los Ajos.....                 | 57         |
| 2.4.4    | Estructura social y agrupamientos.....                 | 57         |
| 2.4.5    | Relación entre estructura poblacional y densidad ..... | 67         |
| 2.4.6    | Análisis de segregación-agregación sexual .....        | 69         |
| 2.4.7    | Análisis de segregación espacial. ....                 | 70         |
| 2.5      | Discusión .....  | 72         |
| 2.5.1    | Parámetros demográficos.....                           | 72         |
| 2.5.2    | Proporción de sexos.....                               | 75         |
| 2.5.3    | Sistema de apareamiento .....                          | 76         |
| 2.5.4    | Estructura social.....                                 | 78         |
| 2.5.5    | Agregación-segregación sexual.....                     | 83         |
| 2.5.6    | Densidad poblacional.....                              | 85         |
| 2.6      | Bibliografía .....                                     | 86         |
| 2.7      | Apéndices.....   | 92         |
| <b>3</b> | <b>USO DEL AMBIENTE .....</b>                          | <b>102</b> |
| 3.1      | Antecedentes y justificación .....                     | 102        |
| 3.1.1    | Estimación del ámbito hogar .....                      | 104        |
| 3.2      | Objetivos .....  | 106        |
| 3.2.1    | Objetivo general:.....                                 | 106        |
| 3.2.2    | Objetivos específicos: .....                           | 106        |
| 3.3      | Material & Métodos.....                                | 106        |
| 3.3.1    | Metodología de captura .....                           | 106        |
| 3.4      | Resultados.....  | 110        |
| 3.4.1    | Localizaciones .....                                   | 110        |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| 3.4.2    | Uso del ambiente .....   | 110        |
| 3.4.3    | Solapamiento espacial .....                                    | 116        |
| 3.4.4    | Patrón de actividad .....                                      | 119        |
| 3.5      | Discusión .....  | 120        |
| 3.5.1    | Tamaño del ámbito hogar inter-poblacional .....                | 121        |
| 3.5.2    | Variación del tamaño del ámbito hogar .....                    | 122        |
| 3.5.3    | Solapamiento espacial .....                                    | 123        |
| 3.6      | Bibliografía .....   | 125        |
| 3.7      | Apéndices.....   | 128        |
| <b>4</b> | <b>ESTRUCTURA GENÉTICA .....</b>                               | <b>134</b> |
| 4.1      | Antecedentes y justificación .....                             | 134        |
| 4.1.1    | Marcadores genéticos hipervariables.....                       | 135        |
| 4.1.2    | Genética de la conservación .....                              | 138        |
| 4.1.3    | Caracterización de un set de microsatélites .....              | 139        |
| 4.2      | Objetivos .....  | 141        |
| 4.2.1    | Objetivo general.....  | 141        |
| 4.2.2    | Objetivos específicos.....                                     | 141        |
| 4.3      | Material & Métodos.....  | 142        |
| 4.3.1    | Muestras utilizadas .....                                      | 142        |
| 4.3.2    | Determinación de un set de loci polimórficos .....             | 143        |
| 4.3.3    | Análisis de distintas poblaciones de venado de campo.....      | 146        |
| 4.3.4    | Composición genética de los grupos .....                       | 148        |
| 4.3.5    | Métodos de genética de poblaciones .....                       | 148        |
| 4.4      | Resultados.....  | 159        |
| 4.4.1    | Caracterización de un set de loci polimórficos .....           | 159        |
| 4.4.2    | Estructura genética de <i>O.b.uruguayensis</i> .....           | 162        |
| 4.4.3    | Composición genética de los grupos .....                       | 164        |
| 4.4.4    | Comparación de diversidad genética con otras poblaciones ..... | 167        |
| 4.4.5    | Número de migrantes .....                                      | 171        |
| 4.5      | Discusión .....  | 172        |
| 4.5.1    | Caracterización de un set de loci polimórficos .....           | 172        |
| 4.5.2    | Estructura genética de <i>O.b.uruguayensis</i> .....           | 173        |

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| 4.5.3    | Análisis entre poblaciones .....                                    | 175        |
| 4.5.4    | Genética de la conservación .....                                   | 177        |
| 4.6      | Bibliografía .....  | 179        |
| 4.7      | Apéndices.....  | 186        |
| <b>5</b> | <b>DISCUSIÓN GENERAL.....</b>                                       | <b>194</b> |
| <hr/>    |   |            |
| 5.1      | <i>Ozotoceros bezoarticus uruguayensis</i> .....                    | 194        |
| 5.1.1    | Venado de campo: hábitat, parámetros demográficos y genéticos ..... | 195        |
| 5.1.2    | Estructura social.....  | 197        |
| 5.1.3    | Implicancias para la conservación.....                              | 198        |
| 5.1.4    | Perspectivas .....  | 199        |
| 5.2      | BIBLIOGRAFÍA.....   | 201        |

## Lista de siglas y acrónimos

|                 |  |
|-----------------|--|
| A               | Amper  |
| ADN             | Ácido Desoxiribo Nucleico  |
| ADNmt           | ADN mitocondrial   |
| AFC             | Análisis Factorial de Correspondencia                                      |
| CITES           | Convención Internacional para el Tráfico y Comercio de Especies Amenazadas |
| cm              | Centímetros  |
| dNTP            | Deoxynucleotido Triphosphato   |
| DS              | Desvío Estándar  |
| EM              | Población Emas   |
| ET              | Población El Tapado  |
| F               | Coeficiente de endogamia   |
| GL              | Grados de libertad   |
| GPS             | Global Positioning System  |
| gr              | Gramos   |
| há              | Hectáreas  |
| H-W             | Hardy-Weinberg   |
| IAM             | Infinite Alleles Model   |
| IBD             | Identical-by-descent   |
| kg              | Kilogramos   |
| km <sup>2</sup> | Kilómetros cuadrados   |
| kV              | kilovolts  |
| KW              | Kruskal Wallis   |
| LA              | Población Los Ajos   |
| mA              | Miliamper  |
| MGAP            | Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca                                |
| Mhz.            | Megahercio   |
| Min.            | Minutos  |
| MLE             | Maximum Likelihood Estimation  |
| mm              | Milímetros   |
| mmol            | Milimolar  |
| MPC             | Mínimo Polígono Convexo  |
| msnm            | Metros sobre el nivel del mar  |
| MYA             | Million Years Ago  |
| Ne              | Número efectivo  |
| ng              | nanogramo  |
| PA              | Población Pantanal   |

|               |   |
|---------------|---|
| pb            | Pares de bases  |
| PCR           | Polymerase Chain Reaction                                 |
| PIC           | Polimorphic Information Content                           |
| pmol          | Picomol   |
| PMV           | Población Mínima Viable                                   |
| PPR           | Proyectos de Producción Responsable                       |
| SA            | Población Bahía de Samborombón                            |
| SSAS          | Sexual Segregation and Aggregation Statistic              |
| Seg.          | Segundos  |
| SL            | Población San Luis  |
| SMM           | Stepwise Mutation Model Modelo de Mutación de un Paso ( ) |
| TGT           | Tamaño de Grupo Típico                                    |
| TPM           | Two Fase Model  |
| TSO           | Tasa de Sexos Operacional                                 |
| UdelaR        | Universidad de la República                               |
| UICN          | Unión Mundial para la Conservación de la Naturaleza       |
| V             | Volts   |
| $\chi^2$      | Chi-cuadrado  |
| $\bar{x}$     | Media   |
| °C            | Grados centígrados  |
| $\mu\text{L}$ | Microlitro  |

## *Agradecimientos*

A la Dra. Susana González por su dedicada orientación y compromiso con mi trabajo, brindándome las herramientas necesarias para el desarrollo de esta tesis y por su infinita pasión por los venados. Al Dr. Jesús Maldonado que me recibió en el *Center for Conservation and Evolutionary Genetics –Smithsonian Conservation Biology Institute*, donde comencé a trabajar con microsatélites; por sus aportes relevantes en el análisis de los datos genéticos, con una paciencia y calidad destacables. Al Dr. Gustavo Folle por el seguimiento de mi trabajo y sus apoyo en la formulación de esta tesis.

Al Dr. José Mauricio Barbanti Duarte, que participó en varias instancias de esta tesis; coordinó la captura de los ejemplares de venado de campo y colocación de radio-collares, realizó extracción de muestras biológicas y nos brindó muestras de las poblaciones brasileras que fueron utilizadas en esta tesis. Al Lic. Mariano Merino que brindó muestras de las poblaciones argentinas. A Solana González y al Dr. Rodolfo Ungerfeld, que aportaron muestras de ejemplares de la Estación de Cría Pan de Azúcar y discutieron aspectos del comportamiento y fisiología de la especie.

A todas las personas que colaboraron en el trabajo de campo y georeferencia, Susana González, Guarda Parque Dante Roibal y Sonia, Clemente Tito Olivera, Raquel Álvarez, Alejandro Márquez, María Noel Merentiel y Susana Cardozo. A Leticia Repetto por su colaboración en el laboratorio. A Carlos Asambuja, que aportó material necesario para el análisis de los microsatélites. A la familia Arrarte por permitirme realizar este estudio en su propiedad, Establecimiento Los Ajos. A la familia Estima, por recibirnos en su establecimiento para realizar el trabajo de campo.

Al PEDECIBA y la ANII por el apoyo brindado, financiando la beca de doctorado y la pasantía en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto Pasteur de Montevideo. A CSIC, Disney Worldwide Conservation Fund y Wildlife Trust, que financiaron varias de las actividades realizadas en esta tesis. A las secretarías Graciela Bocage e Isolina Plata por su permanente colaboración. Al Dr. Carlos Robello, Gonzalo Greif y Cecilia Portella de la Unidad de Biología Molecular del Instituto Pasteur de Montevideo. Al Smithsonian Institution–Short Term Visitor Program, que financió una pasantía en el Genetics Lab, bajo la orientación del Dr. Jesús Maldonado. A Lila que me hizo sentir como en casa, en Washington.

A los miembros de la comisión de seguimiento y al tribunal por la revisión académica de esta tesis y los aportes que mejoraron el resultado final.

A Natalia Mannise, Florencia Grattarola y Lucía Gerpe por su entusiasmo en la biología y genética de la conservación.

A mis compañeros de Laboratorio, Adriana Mimbacas, Mariana Fernández, Elina Gregorini, Claudia Elizondo, Ana Laura Reyes, Joaquina Fariás, Jorge Souto, Matías Fabregat, Federica Moreno, Laura Montes de Oca y Ana Carlozzi por su compañerismo y paciencia.

A mi familia y amigos por su apoyo y cariño.

A José, incondicional, nada más ni nada menos.

A todos muchas gracias.

# PREFACIO

Los ciervos han sido un grupo zoológico muy importante para la especie humana. Hemos mantenido, desde nuestro origen, un estrecho vínculo con las distintas especies de ciervos; han sido una importante fuente de alimento y abrigo, les hemos adjudicado propiedades mágicas. Esta interacción se manifiesta en la presencia de este grupo en las primeras expresiones pictóricas registradas (Putman 1988).

El hombre desde tiempos prehistóricos ha manipulado las poblaciones de ciervos, tanto para explotación, control o conservación; y ha incidido en su distribución, variación y especiación a nivel global. Sin embargo, el efecto de la caza, el aumento poblacional de especies introducidas, la erosión del hábitat por la transformación de las tierras para la agricultura y al desarrollo industrial, han determinado un proceso de reducción poblacional en muchas especies de ungulados. Se registra así la presencia de demos aislados, originados a través de un proceso que ha llevado a gran número de especies a encontrarse en peligro de extinción. Su supervivencia demanda nuestro interés y conocimiento. El futuro de muchas especies de cérvidos depende del manejo genético y demográfico de poblaciones instaladas en pequeñas áreas, zoológicas o áreas de conservación de la vida silvestre (Putman 1988; Vrba & Schaller 2000).

La población de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) Los Ajos, representa una subespecie endémica del Departamento de Rocha (Uruguay) con no más de 450 individuos. Conservar este acervo biológico requiere de la comprensión de procesos demográficos, de uso del ambiente y genéticos, entre otros. Esta tesis comprende los tres aspectos señalados, con el foco en la problemática de conservación de la especie.

# 1 ANTECEDENTES

---

## 1.1 Evolución de los ciervos Sudamericanos

Las formas vivientes del Orden de los Artiodáctilos se compone de tres Subordenes: i. Suiformes, que contiene a los hipopótamos, cerdos, y pecaríes; ii. Tylopoda que contiene solamente a la familia Camelidae: camellos, llamas, vicuñas y guanacos; y iii. Rumiantia o Pecora, el grupo más diverso con seis familias: Tragulidae, Moschidae, Cervidae, Giraffidae, Antilocapridae y Bovidae (Eisenberg 1981; Hernández Fernández & Vrba 2005).

Dentro del grupo de los rumiantes los primeros registros fósiles pertenecen a animales de pequeño tamaño. En el Mioceno el registro fósil muestra, ya en las formas más tempranas, una clara separación en dos grupos distintos: la línea que conduce a los bóvidos modernos y la que luego dará origen a tragulidos, jirafas y ciervos. Este animal “cervoide” recuerda a los actuales miembros de la familia Tragulidae (**Figura 1.1**).



**Figura 1.1:** Ilustración de Heinrich Harder (1858–1935) que representa a un ejemplar del género extinto *Dorcatherium* perteneciente a la familia de los Tragulidae. Éste se asemejaría a los tempranos ancestros de los ciervos en el Mioceno temprano.

Los “cervoides” eran especies ramoneadoras que se encontraban en hábitats de floresta o arbustivos, con dientes de corona baja. Mientras que la contraparte del tipo bóvido colonizó los ambientes abiertos, desarrollando coronas dentales altas, más adecuadas para las pasturas con alto contenido de silicio. Esta temprana divergencia determinó la especialización de cada grupo a distintos tipos de ambientes y dieta que condujo a una posterior diferenciación anatómica y fisiológica (Putman 1988). Los ciervos verdaderos aparecen hacia el final del Mioceno, principio del Plioceno (20 MYA) en Eurasia (Gilbert *et al.* 2006; Webb 2000) y sobre el final de Plioceno el registro fósil presenta una gran variedad de formas, muchas de las cuales están representadas en la actualidad (Putman 1988). Una

característica particular dentro de los ciervos es la de presentar astas<sup>1</sup>. Las astas son semejantes a los cuernos de los bóvidos ya que son de origen óseo. Sin embargo, una vez desarrolladas, las astas no están recubiertas de manera que el hueso queda expuesto. Estas estructuras se sustentan sobre unos discos basales en el cráneo (pedículos) y generalmente tienen una estructura ramificada. Otra característica distintiva de las astas es que presentan un ciclo anual donde caen y vuelven a crecer. La nueva asta es generalmente más compleja y de mayor tamaño que la anterior. En el período de crecimiento se encuentra recubierta por una piel muy delgada (con una importante irrigación sanguínea) que se denomina terciopelo (Putman 1988).

La historia evolutiva de los ciervos neotropicales mantiene aún cierto grado de controversia. En el Plioceno tardío (2.5–3 MYA) se identifican ciervos verdaderos en Norteamérica, que participan en el “Gran Intercambio Americano” entre Norte y Sudamérica. Este grupo tiene un sorprendente éxito en nuestro continente, atribuido a la ausencia de otros rumiantes (Webb 2000).

Los ciervos neotropicales han sido clasificados en dos grupos, establecidos por sus características morfológicas: por un lado el grupo conformado por las especies de menor tamaño y astas no ramificadas (géneros *Mazama* y

---

<sup>1</sup> Estas estructuras son exclusivas de los ciervos, si bien hay especies dentro del grupo que carecen de ellas.

*Pudu*); mientras que el otro grupo comprende animales de mayor porte e importantes astas con varias ramificaciones (*Odocoileus*, *Hippocamelus*, *Ozotoceros*, y *Blastocerus*) (Eisenberg 2000; Merino *et al.* 2005).

En 2006 (Gilbert *et al.*), utilizando dos marcadores mitocondriales de genes codificantes y dos intrones nucleares, en el análisis de 25 especies de ciervos que representarían la diversidad taxonómica de la familia, encuentran que el género *Mazama* no sería monofilético. El estudio de los polimorfismos cromosómicos dentro del género *Mazama*, junto con el análisis de secuencias de citocromo b de ejemplares de todos los géneros neotropicales han permitido a Duarte *et al.* (2008) desarrollar nuevas interpretaciones. Las mismas proponen que los ciervos endémicos del Nuevo Mundo se componen de dos linajes biogeográficos, uno de ellos compuesto por *Odocoileus* y los *Mazama* rojos (*M. bororo*, *M. nana*, *M. americana*, y *M. temama*) con una distribución que ocupa América del Norte, América Central y Sudamérica. El segundo grupo comprende exclusivamente especies sudamericanas: los *Mazama* grises (*M. guazoubira*, *M. nemorivaga*) el ciervo de los pantanos *Blastoceros dichotomus*, el huemul (*H. bisulcus*), la taruka (*H. antisensis*) y el venado de campo *Ozotoceros bezoarticus* (Figura 1.2) (Duarte *et al.* 2008; Gilbert *et al.* 2006). Según estos autores las características morfológicas que agrupan a los cérvidos neotropicales serían homoplasias, debido a caracteres sexuales secundarios y adaptaciones al ambiente que ocupan.

Muchas de las características comunes de su fisiología y biología general pueden relacionarse con sus orígenes, mientras que las diferencias entre las especies vivientes, en estructura, dieta y organización social reflejan

variaciones más recientes a partir de un esquema común. De la misma manera, la adaptación a los requerimientos del ambiente y estilos de vida son tan diversos y la presión adaptativa a circunstancias ecológicas es tan fuerte, que las características particulares de comportamiento, ecología y fisiología observadas parecen estar determinadas más por el tipo de ambiente que ocupan que por la especie a la que pertenecen (Putman 1988).

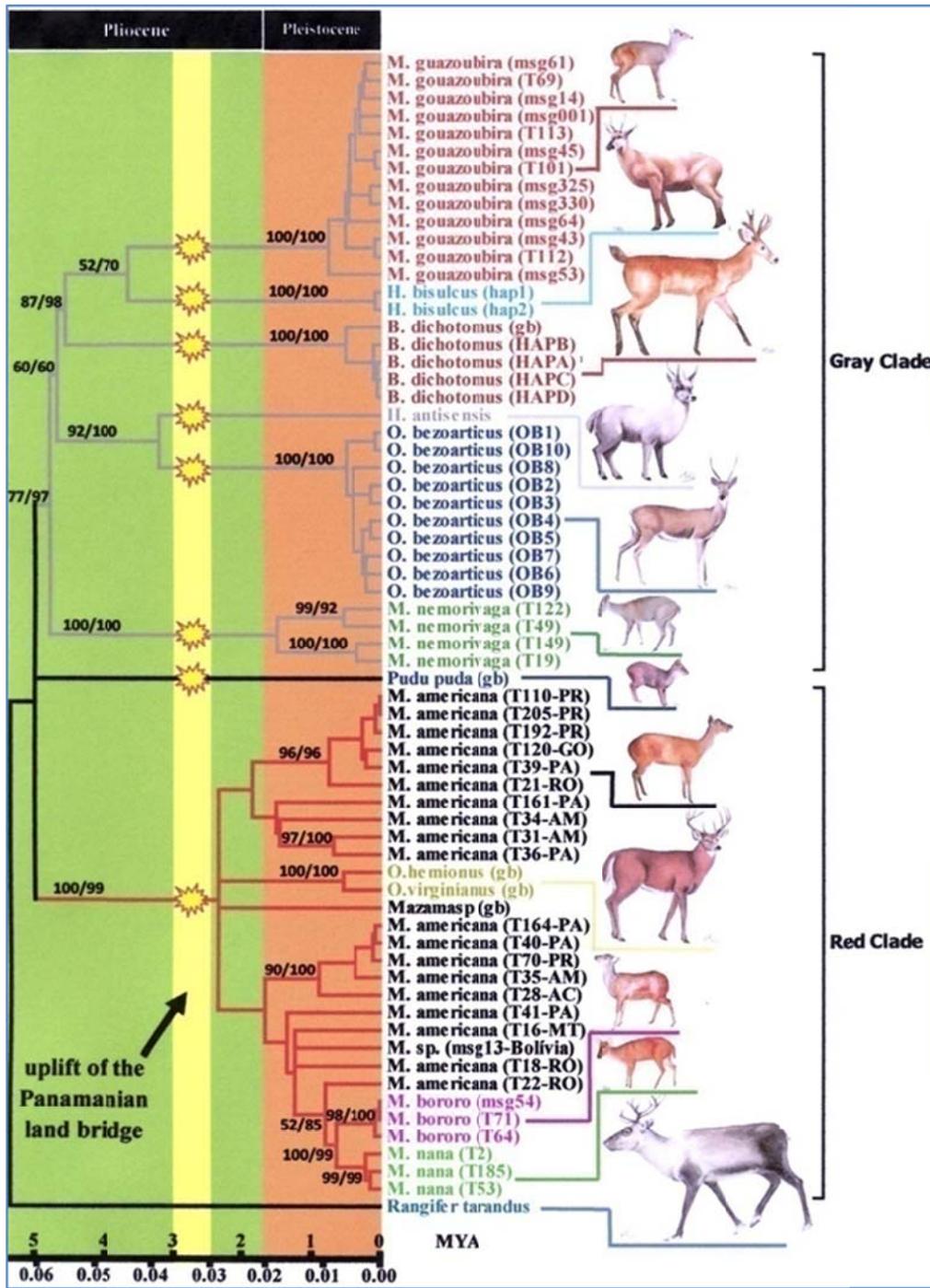


Figura 1.2: Filogenia de los ciervos neotropicales según (Duarte *et al.* 2008).

## 1.2 El venado de campo

### 1.2.1 Morfología y características biológicas

El venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (L. 1758), es un cérvido de tamaño mediano de unos 70 cm de altura a la cruz y de 20 a 40 kg de peso. El color del pelaje varía entre tonalidades que van desde el marrón rojizo al "bayo claro" en toda la zona dorsal. En los flancos, la parte inferior del cuello, vientre, la cara inferior de la cola, y el área que rodea los ojos y labios, es de color "ante crema" (cream buff) muy claro (Cabrera *et al.* 1940; Jackson 1987). Los machos poseen un par de astas que recambian anualmente, la caída de las mismas se concentra en los meses de julio y agosto en las poblaciones uruguayas, en noviembre ya se ven machos con astas desarrolladas. Éstas pueden alcanzar los 30 cm de longitud y 145 gr en el adulto. Las astas pueden estar compuestas por dos o tres puntas o garcetas, aunque se han registrado individuos con puntas supernumerarias (Cabrera 1943; Ungerfeld *et al.* 2008a) (**Figura 1.3**).



**Figura 1.3:** Macho de venado de campo población El Tapado, Salto-Uruguay.

La especie muestra un moderado dimorfismo sexual en el tamaño corporal, los machos tienen una masa aproximadamente 1,2 veces mayor a la de las hembras. Éstas se diferencian de los machos por la ausencia de astas y por presentar un mechón blanquecino en la zona frontal que constituye un remolino (Figura 1.4).



**Figura 1.4:** Pareja de venados de campo población Los Ajos, Rocha-Uruguay. Se puede apreciar el dimorfismo sexual.

Se estima que el tiempo de gestación es de aproximadamente siete meses (Jackson 1987). Las hembras tendrían su primer estro en el entorno de los 12 a 14 meses de edad, ya que hembras en cautiverio han tenido su primera cría a los 21 meses (Ungerfeld *et al.* 2008b). Las crías al nacer pesan alrededor de 1.5 a 2 kg y presentan el dorso y los flancos cubiertos por una "librea" (pelaje de manchas blancas) que mantienen hasta los dos y medio a tres meses de edad (**Figura 1.5**). A los siete meses, los juveniles tienen el aspecto de adultos excepto por su menor tamaño (Fräderich 1987). La tasa sexual en los nacimientos es de 1:1 (Ungerfeld & González-Sierra 2008). Si bien es posible observar crías a lo largo de todo el año, en las poblaciones uruguayas el mayor índice de nacimientos se presenta en primavera.

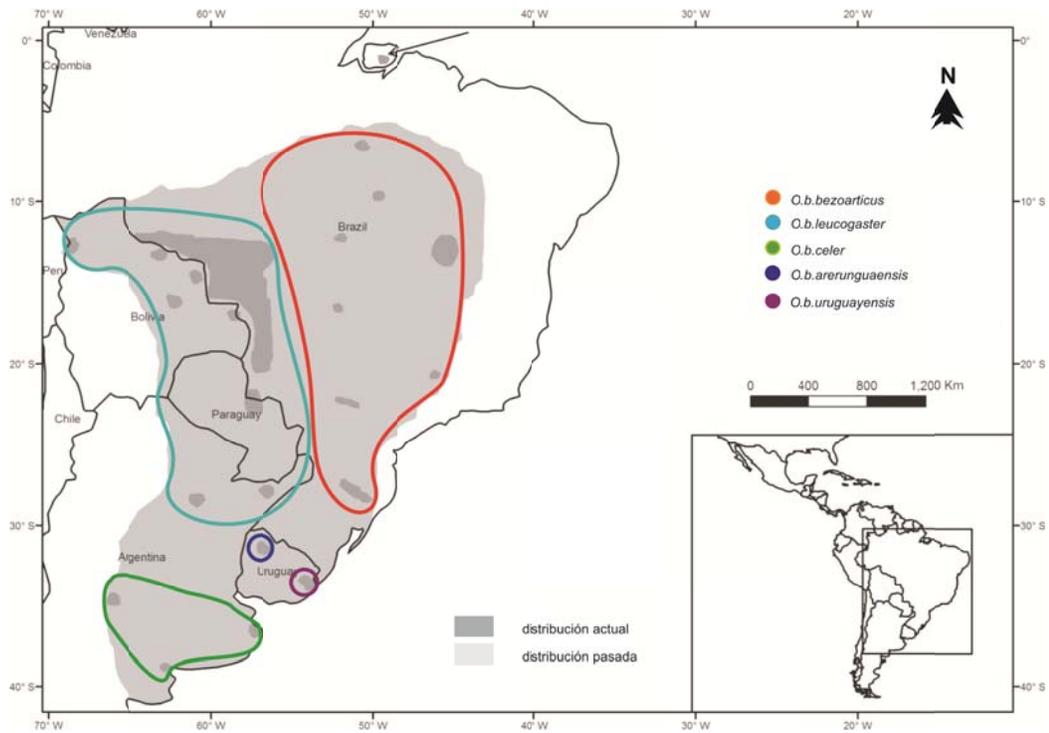


**Figura 1.5:** Cría de venado de campo.

### 1.2.2 Subespecies

Cabrera (1943) realizó una recopilación histórica sobre la taxonomía del venado de campo, que condujo a determinar un género exclusivo: (*Ozotoceros*) (Ameghino 1891). Dentro del nuevo género se distinguieron tres subespecies, en función de diferencias morfológicas, coloración de la piel y tamaño de las astas, así como comparaciones de la serie dental. Esta determinación considera para la región pampeana de Argentina la subespecie *Ozotoceros bezoarticus celer*, mientras que *Ozotoceros bezoarticus leucogaster* se encuentra en el norte Argentino, sudoeste de Brasil, parte de Bolivia y Paraguay; finalmente *Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*, ocupa la región este y central del Brasil al sur de la Amazonia. En 2002 González *et al.* describen dos nuevas subespecies

endémicas del Uruguay: *O. b. arerunguensis* que se ubica en el Departamento de Salto (noroeste del país) y *O. b. uruguayensis*, al este en el Departamento de Rocha (Figura 1.6).



**Figura 1.6:** Mapa con la distribución pasada y presente de la especie; se marcaron las regiones ocupadas por las diferentes subespecies. Tomado de González *et al.* (2010) con modificaciones.

### 1.2.3 Distribución histórica y declinación poblacional.

Históricamente el venado de campo presentaba una amplia distribución que iba desde los 5º a los 41º latitud Sur (Cabrera *et al.* 1940). Los naturalistas, viajeros e historiadores reportan que hasta fines del 1800 la especie mantenía una amplia distribución y era muy abundante (Cabrera 1943; Fitzroy & Darwin 1839). Estas referencias también mencionan que eran extensamente cazados para comida y cuero.

En los comienzos del siglo XX se comenzó a notar una reducción generalizada de sus poblaciones. Las principales causas según Giménez-Dixon (1987) fueron la reducción y modificación de su hábitat, la introducción de ungulados domésticos y silvestres, la transmisión de enfermedades por las especies exóticas y la caza excesiva. La fragmentación del hábitat ha reducido de manera dramática su rango de distribución que hoy no alcanza el 1% del área que ocupaba a comienzos de 1900, este proceso determina la existencia de una serie de poblaciones pequeñas y aisladas (González *et al.* 2010).

### 1.2.4 Venado de campo en Uruguay

El análisis arqueo-faunístico de diferentes sitios arqueológicos de nuestro país, da cuenta de una extensa e intensa relación del venado de campo con las comunidades indígenas prehistóricas. La presencia de venado se observa en la gran mayoría de los sitios excavados, y en toda la secuencia cronológica analizada, que comprende alrededor de 5000 años. Los restos óseos recuperados presentan una serie de modificaciones antrópicas que permiten reconocer un aprovechamiento intensivo. A nivel

culinario sería una de las especies predominantes como fuente proteica de la dieta prehistórica. El consumo de médula ósea, con un importante aporte de proteínas, grasas y nutrientes esenciales, también ha sido evidenciado al observarse la fragmentación de huesos largos para su extracción. Se ha establecido a su vez la utilización de huesos de venado como materia prima para la fabricación de diversos instrumentos. Sin embargo, la presión cinegética sobre la especie no tuvo impacto sobre sus poblaciones, dada la baja densidad de las poblaciones humanas, junto con prácticas de manejo sustentable por parte de las comunidades indígenas (Moreno 2003; 2005).

Hacia 1511, en las crónicas de los viajeros españoles, se menciona la caza de venado de campo, y la utilización del cuero de este cérvido para la vestimenta de los colonos que se habían asentado en las tierras del Río de la Plata (López de Gómara & Gurría Lacroix 1979). Sin embargo la Banda Oriental recién comenzó un proceso de colonización importante hacia 1617 cuando Hernandarias descubrió la riqueza de sus pasturas, introduciendo las primeras cabezas de ganado vacuno que ocuparon el territorio. A pesar de la introducción de los herbívoros exóticos el venado de campo era aún muy común y abundante en el Uruguay (Fitzroy & Darwin 1839).

En 1980 Jackson *et al.* realizaron una recopilación histórica y reciente de la distribución del venado de campo en Uruguay, en la cual se observa la acelerada declinación en el tamaño y número de sus poblaciones. Actualmente en el Uruguay existen dos poblaciones silvestres de venado de campo, una en el departamento de Salto, población de “El Tapado”, con

aproximadamente 1000 individuos ocupando 10000 há y otra en el departamento de Rocha, población de “Los Ajos” con un número de unos 250 individuos en un área de entre 2000 y 2500 há (Cosse, 2001; González, 1998).

En el año 1985, el Poder Ejecutivo declaró al venado de campo como “Monumento Natural”, considerando su crítica situación poblacional (Decreto 12/985). La Convención Internacional para el Tráfico y Comercio de Especies Amenazadas (CITES) incluyó al venado de campo en el Apéndice I, ya que catalogó a la especie “en peligro de extinción en toda el área de distribución” (CITES 2010). Para las listas rojas de la UICN la especie está catalogada como cercana a la amenaza (González & Merino 2008).

## 1.3 Objetivos

El objetivo general de esta tesis es establecer los patrones de uso de hábitat y la estructura genética de la subespecie *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*, que permitan la generación de pautas para su conservación.

### 1.3.1 Objetivos específicos

- i. Caracterizar la estructura demográfica y social de la población Los Ajos.
- ii. Determinar el patrón de uso del ambiente en ejemplares de venado de campo.
- iii. Analizar la estructura genética de la población Los Ajos de venado de campo con un conjunto de marcadores genéticos hipervariables.

## 1.4 Material & Métodos

### 1.5 Área de estudio

La población Los Ajos es la más pequeña de las dos poblaciones naturales de venado de campo en Uruguay. Se localiza principalmente en un único establecimiento agropecuario (Los Ajos) que consta de 8000 há (33°50'01''S; 54°01'34''W) dentro de la Reserva de la Biósfera “Baños del Este”, en el Departamento de Rocha en el sureste del Uruguay.

El paisaje es bajo y suavemente ondulado, el suelo es de origen Cuaternario de sedimentos no consolidados (arcillas, limos y arenas arcillosas, puntos locales rocosos de roca ígnea o metamórfica) (Chebataroff 1952). El rango de altitud va de 5 a 100 msnm; el promedio anual de lluvias es de 1000 mm y la temperatura anual promedio es de 16°C (Cosse *et al.* 2009).

Se estima que dentro de las 8500 há del establecimiento agropecuario, el área núcleo utilizada por los venados es de 2500 há. Las actividades agropecuarias desarrolladas en el establecimiento comprenden la cría de ganado (ovino y bovino), el cultivo de arroz para consumo humano y pasturas para ganado como ryegrass (*Lolium* sp., Poaceae). El establecimiento comprende diferentes potreros con distintas cargas ganaderas y cultivos impuestos. Los venados pueden elegir libremente su área de ocupación ya que atraviesan los alambrados cómodamente. Los potreros donde se encuentran venados y su tamaño se describen en la tabla 3.1.

**Tabla 3.1:** Potreros ocupados por venados en la Estancia Los Ajos con detalle de las hectáreas.

| Potrero            | Hectáreas |
|--------------------|-----------|
| Las Casas          |           |
| Chorizo + Maciegal | 313       |
| Los Venados        | 329       |
| Manguera de Yeguas | 352       |
| Sauce Caído I      | 268       |
| Sauce Caído II     | 166       |
| Sauce Caído III    | 300       |
| Fondo Sauce Caído  | 237       |
| Semillero          | 35        |

## 1.6 Población Los Ajos

La población de venado de campo Los Ajos, comprende la subespecie *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis* (González *et al.* 2002), endémica del Departamento de Rocha. A su vez es la subespecie más vulnerable desde el punto de vista de su conservación ya que presenta bajos números poblacionales y una muy reducida dispersión del área de ocupación.

En esta población la época de apareamiento se circunscribe a los meses de febrero a marzo (verano). El ciclo de las astas en la población Los Ajos comienza con el crecimiento de las mismas con terciopelo, a partir de fines de agosto (invierno); para mediados de noviembre (primavera) la mayoría de los machos presentan astas desnudas. A partir de mediados de julio comienza la época de caída de astas que se observa hasta agosto. Las crías nacen entre setiembre y principios de noviembre (primavera), (Figura 3.1).



**Figura 3.1:** Esquema de algunos de los ciclos biológicos anuales de la especie. Se observa la época del año de los picos de apareamientos, caída y crecimiento de astas y nacimientos para la población Los Ajos.

## 1.7 Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico utilizamos el programa STATISTICA 7 (StatSoft Inc. 2004). Establecimos como valores de significación estadística  $\alpha = 0,05$ .

## 1.8 Estructura de la tesis

Los tres objetivos específicos que aborda esta tesis comprenden tres áreas de estudio que se desarrollan en los siguientes tres capítulos de esta tesis según:

2. Demografía
3. Uso del ambiente
4. Estructura genética poblacional

Finalmente, en el capítulo cinco se plantea una discusión general junto con las conclusiones, integrando estos tres aspectos en la generación de pautas para la conservación de la subespecie *O.b.uruguayensis*.

## 1.9 Bibliografía

- Ameghino F. 1891. Mamíferos y Aves fósiles argentinos. Especies nuevas, adiciones y correcciones. *Revista Argentina de Historia Natural* 1:240–59
- Cabrera A. 1943. Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica. *Revista del Museo de La Plata (n.s)* Sec. Zool:5–41
- Cabrera A, Yepes J, Wiedner CC. 1940. *Mamíferos sud-americanos: (vida, costumbres y descripción)*. Buenos Aires: Compañía Argentina de Editores. 370 pp.
- CITES. 2010.  
[http://www.cites.org/gallery/species/mammal/pampas\\_deer.html](http://www.cites.org/gallery/species/mammal/pampas_deer.html)
- Cosse M. 2001. Dieta y solapamiento de la población de venado de campo "Los Ajos", (*Ozotoceros bezoarticus* L, 1758) (*Artiodactyla: Cervidae*). Thesis Dissertation. UdelaR, Montevideo
- Cosse M, González S, Gimenez-Dixon M. 2009. Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia* 99:158–64
- Chebataroff J. 1952. *Regiones naturales del Uruguay y de Rio Grande del Sur*. Montevideo: [s.n.]. 38 pp.
- Duarte JMB, Gonzalez S, Maldonado J. 2008. The surprising evolutionary history of South American deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49:17–22
- Eisenberg JF. 1981. *The mammalian radiations: an analysis of trends in evolution, adaptation, and behaviour*. London: Athlone Press. 620 pp.
- Eisenberg JF. 2000. The contemporary Cervidae of Central and South America. In *Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics, and conservation*, ed. ES Vrba, GB Schaller, pp. 189–202. New Haven: Yale University Press
- Fitzroy R, Darwin C. 1839. *Narrative of the surveying voyages of his majesty's ships adventure and beagle between the years 1826 and 1836 describing their examination of the southern shores of south America and the beagles circumnavigation of the globes*. London: Henry Colburn

- Fräderich H. 1987. The husbandry of tropical and temperate cervids in the West Berlin Zoo. In: *Biology and management of the Cervidae: a conference held at the Conservation and Research Center, National Zoological Park, Smithsonian Institution, Front Royal, Virginia, August 1-5, 1982*, ed. CM Wemmer, pp. 422-8. Washington u.a: Smithsonian Inst. Press
- Gilbert C, Ropiquet A, Hassanin A. 2006. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:101-17
- Giménez Dixon M. 1987. La conservación del venado de las pampas, Min. As. Agr., Dir. Rec. Nat. y Ecología, Pcia. Buenos Aires
- González S, Álvarez-Valín F, Maldonado JE. 2002. Morphometric differentiation of endangered pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*), with description of new subspecies from Uruguay. *Journal of Mammalogy* 83:1127-40
- González S, Cosse M, Góss Braga F, Vila AR, Merino ML, *et al.* 2010. PAMPAS DEER *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus 1758). In *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*, ed. JMB Duarte, S Gonzalez, pp. 119-32. Jaboticabal: Funep/IUCN
- González S, Maldonado JE, Leonard JA, Vilà C, Duarte JMB, *et al.* 1998. Conservation genetics of the endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Molecular Ecology* 7:47-56
- González S, Merino ML. 2008. *Ozotoceros bezoarticus*. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- Hernández Fernández M, Vrba ES. 2005. A complete estimate of the phylogenetic relationships in Ruminantia: a dated species-level supertree of the extant ruminants. *Biological Reviews* 80:269-302
- Jackson J, Landa P, Langguth A. 1980. Pampas Deer in Uruguay. *Oryx* 15:267-72
- Jackson JE. 1987. *Ozotoceros bezoarticus*. *Mammalian Species*: 1-5
- López de Gómara F, Gurría Lacroix J. 1979. *Historia general de las Indias; (y) Vida de Hernán Cortés*. Caracas: Fundación Biblioteca Ayacucho. 373 pp.

- Merino ML, Milne N, Vizcaíno SF. 2005. A cranial morphometric study of deer (Mammalia, Cervidae) from Argentina using three-dimensional landmarks. *Acta Theriologica* 50:91-108
- Moreno F. 2003. *Análisis arqueofaunístico del Sitio Rincón de Los Indios*. Monografía de grado. Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación, Montevideo. 149 pp.
- Moreno F. 2005. *Estudio arqueofaunístico (vertebrados) del sitio arqueológico La Esmeralda (Litoral Atlántico uruguayo)*. Trabajo de Investigación de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona. 189 pp.
- Putman R. 1988. *The natural history of deer*. Ithaca, N.Y.: Comstock Pub. Associates. 191 pp.
- StatSoft Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system). [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)
- Ungerfeld R, Bielli A, Gonzalez-Pensado SX, Villagran M, Gonzalez-Sierra UT. 2008a. Antler size and weight in a herd of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Mammalian Biology* 73:478-81
- Ungerfeld R, Gonzalez-Pensado S, Villagran M, Olazabal D, Bielli A, Perez W. 2008b. Reproductive biology of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*): A review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 50:16
- Ungerfeld R, González-Sierra UT. 2008. Reproduction in a semi-captive herd of pampas deer *Ozotoceros bezoarticus*. *Wildlife Biology* 14:350-7
- Vrba ES, Schaller GB. 2000. *Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics, and conservation*. New Haven: Yale University Press. 350 pp.
- Webb SD. 2000. Evolutionary history of new world deer. In *Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics, and conservation*, ed. ES Vrba, GB Schaller, pp. 38-64. New Haven: Yale University Press

## 2 ESTRUCTURA DEMOGRÁFICA

---

### 2.1 Antecedentes y justificación

La unidad fundamental para la conservación de una especie y el objetivo primario de los planes de manejo es *la población*. Con este término nos referimos a un grupo de individuos con una cohesión espacial, genética o demográfica (Van Dyke 2003).

Una vez que tenemos definida una población, es imprescindible establecer los factores que determinan su tamaño y persistencia así como las causas de su declinación. Los procesos demográficos en sí mismos determinan la probabilidad de permanencia de una población. La comprensión de estos procesos es fundamental para el diseño de programas de conservación, más aún cuando se trata de poblaciones aisladas, donde no existe la posibilidad de recolonización por eventos de migración. La variable básica de la demografía es el tamaño poblacional, en un tiempo dado. Este

parámetro está relacionado con aspectos de la historia de vida, reproducción y supervivencia que determinan: i) si el tamaño poblacional se incrementa o decrece de una generación a la siguiente; ii) la respuesta de las diferentes edades y categorías sexuales a los cambios en la densidad y el ambiente que ocupan (Clutton-Brock & Coulson 2002; Holsinger 2000; McCullough 1978).

Para poder establecer el estado de conservación actual de una especie y proyectar su tendencia poblacional con fines de manejo, es necesario conocer entonces, la estructura y dinámica poblacional.

Los factores que conducen a la extinción de una población se pueden discriminar en dos categorías: i) presiones sistemáticas y ii) perturbaciones estocásticas (Caughley 1994):

i) Presiones sistemáticas: generan una declinación poblacional sostenida que puede llevar a una reducción importante en el tamaño poblacional e incluso conducir a la extinción de la misma. En principio si es posible establecer o definir las presiones sistemáticas, sería deseable revertir su impacto en la población.

ii) Perturbaciones estocásticas: definidas por variaciones azarosas que afectan la supervivencia de los individuos de una población. En este caso no se puede determinar el efecto de la perturbación pero sí su magnitud. Ésta dependerá directamente del tamaño poblacional, las poblaciones de mayor tamaño se ven afectadas en menor grado que las pequeñas poblaciones. Estos factores se clasifican en factores genéticos, demográficos, ambientales y catástrofes naturales.

Mientras las amenazas determinísticas en general no se relacionan con el tamaño poblacional, la magnitud de las amenazas estocásticas es directamente dependiente del tamaño de la población. De esta manera, el aumento en el tamaño poblacional puede implicar cierta protección contra las amenazas estocásticas mientras que brinda menor protección contra las amenazas determinísticas (Caughley 1994; Holsinger 2000).

Ya que las perturbaciones sistemáticas reducen el tamaño poblacional y las estocásticas tienen mayor impacto en las poblaciones pequeñas, conocer el tamaño de una población así como su tendencia en el tiempo, es fundamental para comprender qué procesos y en qué medida, están afectando a una población aislada como la de Los Ajos.

#### 2.1.1 Parámetros demográficos

Los grandes herbívoros presentan historias de vida que implican un aumento en el tamaño corporal, una baja tasa reproductiva con una fuerte inversión parental, extendida longevidad y solapamiento entre las generaciones. Estas características determinan que sean un grupo con una estrategia reproductiva del tipo K, que se caracteriza por tamaños poblacionales estables cercanos a la capacidad de carga (MacArthur & Wilson 1967; Pianka 1970).

Shaffer (1981) define un nuevo término para la biología de la conservación, el de Población Mínima Viable (PMV): “Una población mínima viable para una especie dada, en un hábitat determinado, es la población aislada lo más pequeña posible, que tenga un 99% de chance de mantenerse por 1000 años a pesar de los efectos previsibles de la aleatoriedad demográfica, ambiental y genética, así como de las catástrofes

naturales.” La determinación del número mínimo de animales necesarios para la persistencia y adaptación a largo plazo de una población en un lugar específico, se ha vuelto un problema relevante para la biología de la conservación (Soulé 1987). Para obtener un buen estimativo de PMV para una especie dada se requiere de un detallado estudio de la demografía de sus poblaciones (Primack 2000).

Para poder modelar el crecimiento de la población se requiere conocer la estructura de edades, proporción de sexos, natalidad, fecundidad y mortalidad. A su vez, el comportamiento animal tiene una incidencia en el crecimiento de una población, afectando los parámetros demográficos en respuesta al tipo de ambiente. Los modelos logísticos de crecimiento poblacional asumen que todos los individuos en una población son, en términos demográficos, esencialmente equivalentes uno de otro en relación a su reproducción y supervivencia. Esto es muy poco frecuente en poblaciones de individuos longevos donde el crecimiento de la población es definido por la estructura de edades y la proporción de sexos (Van Dyke 2003). A modo de ejemplo, la proporción de sexos puede cambiar con la densidad y las condiciones del ambiente afectando la tasa de crecimiento poblacional (Gerber 2006).

El sistema de apareamiento de una especie determina el número efectivo de la población, que generalmente es mucho menor al número de individuos sexualmente maduros. En una población pequeña, el número efectivo puede alcanzar un tamaño tan reducido (debido al sistema de apareamiento de la especie) ocasionando pérdida de diversidad genética, que podría disparar un proceso de depresión endogámica (Caro 1998).

Otro aspecto relevante para la conservación de las especies es el proceso de fragmentación del hábitat, donde el comportamiento de dispersión puede jugar un rol importante tanto en el establecimiento de flujo génico en un sistema de metapoblaciones, como en la pérdida de individuos en demos muy aislados (Sutherland 1998). Por tanto, la dispersión también debe ser estimada en sus dos dimensiones: la tasa de dispersión (proporción de individuos que dejan el área natal) y la distancia de dispersión (cuánto viaja un individuo desde su área natal hasta el sitio donde se establece) (Van Dyke 2003).

Es importante poder predecir qué sucederá en una población como resultado de los cambios en el ambiente. Una ventaja de comprender las decisiones comportamentales de los individuos es que hace posible predecir su comportamiento en ambientes nuevos, que surjan de los cambios ambientales. Comprender el sistema de apareamiento y el comportamiento social puede mejorar en gran medida nuestras predicciones (Sutherland 1998).

### 2.1.2 Estructura social y agrupamientos

Muchas especies de cérvidos muestran cierto comportamiento social. La estructura de los grupos está delineada por dos estrategias, la alimentaria y la anti-predatoria. En ungulados se han establecido cinco clases de estructura de grupos en función de estos parámetros (Jarman 1974). Los tamaños de grupo, incluso en las especies más sociales, pueden cambiar en función de las necesidades de los individuos y según la estación y/o el tipo de hábitat (Putman 1988). La determinación de la estrategia de

agrupamiento de una población y la variación de la misma en diferentes ambientes, nos puede dar información sobre diversos aspectos, como pueden ser la calidad del ambiente y la presión de caza.

Existe una distinción clara entre *unidades sociales*, que implican agrupamientos sociales precisos, y las *asociaciones casuales* donde más de una *unidad social* se reúne para formar grupos mayores. Estas últimas agrupaciones son muy comunes en los grupos de alimentación, donde varias unidades sociales ocupan simultáneamente un área, en el momento de alimentarse. La unidad fundamental sería entonces tan pequeña que es apreciada por observaciones casuales, y según Putman (1978) en *todas* las especies de ciervos la unidad social básica sería extremadamente pequeña, el grupo familiar, o asociaciones de pares de machos. Sin embargo, parecería ser que ciertas unidades básicas se asocian en grupos de alimentación determinados, y éstos no serían entonces agrupaciones al azar de unidades básicas sino más específicas (Holsinger 2000). Un extenso análisis de la organización social de los antílopes y su relación con variables ecológicas fue realizado por Jarman (1974). Las clasificaciones establecidas por este autor fueron la base para estudios posteriores en otros ungulados. Jarman estableció cinco categorías de tipos de agrupamientos que se relacionan con estrategias alimentarias y comportamiento anti-predatorio. Kurt (1978), en cambio, reconoce distintos tipos de categorías de sociabilización en las especies de ciervos asiáticos que Putman (1978) considera que son transferibles a todas las especies de ciervos.

Estas categorías forman un continuo desde especies esencialmente solitarias a aquellas donde las agregaciones son de mayor duración y persistencia. En este continuo se pueden definir tres categorías, dentro de las cuales las especies o poblaciones se ajustan en mayor o menor medida, a saber: i) especies solitarias y territoriales (por ejemplo las especies pertenecientes al género *Muntiacus*), ii) especies básicamente solitarias que presentan agrupaciones ocasionales (como el ciervo asiático sambar *Cervus unicolor*), y iii) especies con sociabilidad real (un ejemplo clásico es *Axis axis*), que presentan una asociación más regular y un desarrollo de jerarquías relacionado con un grupo persistente. En algunos casos se observan asociaciones estables por largos períodos, conformadas por grupos matrilineales (Putman 1988).

Caughley (1964) sostiene que los grupos son agregaciones inestables que se fusionan y se disgregan intermitentemente. En este escenario se han planteado dos tendencias en relación al tamaño de grupo: i) a mayor densidad poblacional – grupos más grandes; ii) ambientes más abiertos – grupos de mayor tamaño; esta segunda hipótesis se ha planteado como una respuesta anti-predatoria (“hipótesis de muchos ojos”: a mayor número de animales menor el tiempo de vigilancia individual). ¿Qué es lo que determina que a mayor densidad, sean mayores los grupos? La respuesta parece ser que el aumento de densidad aumenta la probabilidad de reunión de los individuos. La misma explicación es válida en relación a las características del hábitat, ya que en ambientes más abiertos la probabilidad de dos individuos de detectarse es mayor (Pays *et al.* 2007).

Sin embargo el forrajeo en grupo, en general, implica costos y beneficios para los individuos, asociados con la presencia de otros individuos de la misma especie. Es así que se espera que la eficacia biológica describa un comportamiento gaussiano en función del tamaño de grupo (Krause & Ruxton 2002).

Si el tamaño de grupo está determinado por agregaciones inestables, en el mismo ambiente, su variación debe ser solamente dependiente de la densidad poblacional. Mientras que si el tamaño de grupo presenta un valor relacionado con la eficacia óptima (*fitness*) del individuo, este valor dependerá, tanto de la variación estacional como de los requerimientos de los individuos en función de su sexo, edad y estado reproductivo.

### 2.1.3 Segregación sexual

En la mayoría de las especies sociales de ungulados se observa que machos y hembras viven en grupos separados, excepto en la época reproductiva; generalmente utilizando distintos ámbitos hogar, o diferentes tipos de hábitat (Clutton-Brock *et al.* 1982). Una extensa revisión de las hipótesis propuestas para explicar la segregación sexual en ungulados se puede encontrar en el trabajo de Ruckstuhl (2007). Las mismas se dividen en dos grupos: i) hipótesis clásicas donde la segregación sexual se origina en diferencias determinadas por la estrategia reproductiva o el dimorfismo sexual<sup>2</sup>. Estas hipótesis si bien son contrapuestas se basan

---

<sup>2</sup> La hipótesis de riesgo de predación se basa en las estrategias reproductivas diferenciales entre machos y hembras, donde las últimas preferirían hábitats más seguros (ya que

ambas en una segregación social como consecuencia final de una selección diferencial de hábitat en ambientes heterogéneos (Ruckstuhl & Neuhaus 2000); ii) hipótesis que no requieren de ambientes heterogéneos y se basan en diferencias comportamentales entre machos y hembras<sup>3</sup> como determinantes de la segregación sexual (Clutton-Brock *et al.* 1987; Pérez-Barbería & Yearsley 2010). La comprensión de estos procesos en el venado de campo es fundamental para entender los mecanismos que modelan la estructura genética de las poblaciones y las implicancias del hábitat que ocupan a su grado de variabilidad genética y opciones de manejo.

---

serían más susceptibles a la predación) a expensas de la calidad de forraje, mientras que los machos invierten en pasturas de mejor calidad para mejorar su performance en la competencia entre machos por el acceso a las hembras. La hipótesis contrapuesta de selección de forraje, señala que la segregación sexual se origina en el menor tamaño de las hembras, que requerirán por tanto, de dietas de mejor calidad que los machos.

<sup>3</sup> La hipótesis de *costo* se origina en el mismo principio de la hipótesis de *selección de forraje* donde el dimorfismo sexual determina diferentes requerimientos nutricionales, pero en este caso se plantea un ambiente homogéneo y por tanto un estrategia de forrajeo diferencial que determina un comportamiento diferencial, que en definitiva segrega en la dinámica de los grupos a machos y hembras; la hipótesis de *afinidad social* establece que los machos prefieren estar juntos ya que la interacción con sus posibles rivales en el acceso a las hembras mejora su eficacia reproductiva.

En relación a la estructura social, nos planteamos entonces las siguientes hipótesis:

H<sub>0</sub>: El tamaño de grupo varía en función del período del año.

H<sub>1</sub>: Los individuos variarán en el tamaño de grupo que componen en función del estado reproductivo.

H<sub>2</sub>: Los individuos de distinto sexo presentarán variaciones significativas en el tipo de grupo que componen.

H<sub>3</sub>: El tamaño de grupo varía en función de la densidad poblacional.

En relación a la segregación sexual nos planteamos las hipótesis:

H<sub>0</sub>: La asociación de individuos en grupos es independiente del sexo de los mismos.

H<sub>1</sub>: La existencia de segregación sexual se observa a lo largo de todo el año.

H<sub>2</sub>: Los grupos exclusivamente de machos y de hembras ocupan diferentes ambientes.

## 2.2 Objetivos

### 2.2.1 Objetivo general:

Establecer el tamaño, estructura demográfica y social de la población Los Ajos.

### 2.2.2 Objetivos específicos:

Analizar la media observada en el tamaño poblacional y su tendencia, en un período de siete años de muestreos.

Establecer para ese período la estructura poblacional: proporción de sexos y tasa de reclutamiento.

Analizar la dinámica poblacional: composición de los grupos (tamaño y proporción de sexos) y su variación anual.

## 2.3 Material & Métodos

### 2.3.1 Metodología de los censos

La información obtenida en siete años de censos, que se distribuyeron entre 1996–1999 y 2002–2004, fue procesada para analizar la estructura demográfica y la estructura social.

Los censos se realizaron a media mañana y a media tarde en las horas de mayor visibilidad. Para ello se recorría la caminería interna del establecimiento con vehículo, realizando paradas específicas en sitios de alta visibilidad. El trayecto total abarcó ocho kilómetros que se recorrían en aproximadamente tres horas. Las observaciones se efectuaban con binoculares 10x50 y telescopio fijo al vehículo 20x50, La metodología de los censos consistió en registrar la presencia de grupos y establecer su composición en número de animales, sexo y clase de edad, estableciendo también la ubicación espacial (potrero que ocupaban).

### 2.3.2 Evaluación de ejemplares capturados

Se determinó la edad y estado reproductivo de 14 individuos capturados entre los días 27 a 29 de octubre de 2001 para evaluación sanitaria y colocación de radio-collares (González & Duarte 2003). El protocolo de captura se detalla en la sección 5.3 y en González & Duarte (2003).

### 2.3.3 Densidad

Los datos de densidad se obtuvieron de 28 censos desde 1998 a 2004, que contaban con información sobre la distribución de los individuos en las

diferentes áreas del establecimiento (potreros). Para este análisis se contabilizaron 3290 individuos conformando 1645 grupos. La densidad de venados fue establecida en función del número de individuos por potrero (área) para cada censo. Se analizó la varianza entre el potrero y la media de la densidad encontrada.

Se realizó una correlación para cada año y potrero entre la densidad y el tamaño medio de grupo. Comparamos la densidad y el tamaño medio de grupo para distintas poblaciones, incluyendo información de la tasa de sexos, latitud y longitud. Para analizar cuál es el mejor predictor del tamaño medio de grupo se realizó un análisis de regresión múltiple (Zar 1999).

#### 2.3.4 Estructura demográfica

Se examinó la estructura demográfica (machos, hembras, juveniles y crías) incluyendo a los individuos indeterminados; los cuales fueron distribuidos entre machos y hembras en igual proporción a la proporción de sexos encontrada.

#### 2.3.5 Estructura social

Para analizar la estructura social se determinaron agrupamientos (agregación con mayor cohesión espacial que la media) y dentro de estos agrupamientos los individuos se clasificaron por sexo y rango de edad.

Se establecieron diferentes tipos de *grupos* que conformaron cuatro categorías según su composición: G<sub>1</sub> *nursery*: varias hembras con crías y juveniles; G<sub>2</sub> *bachelor*: grupos compuestos por machos y juveniles; G<sub>3</sub>

*grupos mixtos*, aquellos grupos donde se observaron hembras y machos (en este caso se incluían los grupos con individuos indeterminados. Finalmente se estableció una categoría  $G_0$  que fue asignada a aquellos grupos que no pudieron ser categorizados, fundamentalmente por presentar individuos de un solo sexo e individuos indeterminados.

Se analizó el tamaño de los grupos, estableciendo cinco categorías, 1: individuos solitarios; 2-3: pares de individuos y grupos de tres individuos; 4-9: grupos de cuatro a nueve individuos; y 10+: grupos de más de diez individuos. Se analizaron los valores medios para las distintas categorías discriminando por mes y por estación.

Se estimó el Tamaño de Grupo Típico (TGT) (Jarman 1974; Moore 2001) según:

$$TGT = \frac{\sum_{i=1}^N n_i^2}{\sum_{i=1}^N n_i} \quad (2.1)$$

Donde  $n_i$  es el número de individuos en el grupo  $i$  y  $N$  es el número de individuos en la población. Este parámetro da información del tamaño de grupo observado para el promedio de los individuos. Esto es, si en un muestreo se observan 75 individuos solitarios y 25 grupos de siete individuos cada uno, el valor medio del tamaño de grupo será de 2,5; mientras que el TGT será 5,2 que es un número más próximo al del tamaño de grupo en el que se encuentran la mayoría de los individuos observados. El TGT fue calculado para los diferentes meses y épocas del año y para los grupos mixtos, exclusivamente de machos y exclusivamente de hembras.

En los grupos mixtos (sin individuos indeterminados, sin contabilizar parejas mixtas,  $n = 44$ ) se estableció la proporción de sexos ( $n^{\circ}$  de machos/ $n^{\circ}$  hembras) y la proporción de juveniles ( $n^{\circ}$  juveniles/tamaño total del grupo). Para cada censo se analizó la composición de los grupos en función del número relativo de individuos y del número de grupos conformando cada clase de grupo. Se analizó también la proporción de cada categoría de individuos en cada uno de los tipos de grupos.

Por tratarse de parámetros que no presentan una distribución normal las diferencias entre las variables se testearon utilizando el análisis de varianza de Kruskal–Wallis (Zar 1999). Se realizaron análisis de varianza para la proporción de cada tipo de grupo, en la población, en función del mes. Luego se analizó la conformación de la población en distintos tipos de grupo, eliminando aquellos grupos sin clasificar como los individuos solitarios indeterminados y los grupos de varios individuos de un mismo sexo junto con individuos indeterminados.

Para establecer si existían variaciones significativas entre machos y hembras en el tipo de grupo que componen, se sumaron el número de individuos hembras y machos, que se encontraban solitarios, en los grupos de un solo sexo o en grupos mixtos. Para analizar la diferencia en el tipo de asociación que presentaban los individuos en función del sexo se realizó un test de contingencia de  $r \times c$  (Milton & Tsokos 1987). Con este test se analiza la asociación entre el tipo de grupo (solitarios, grupos mixtos, grupos de un solo sexo). La tabla de contingencia se corrió en software en línea (Kirkman 1996). Para este análisis se incluyeron los datos de la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1:** Datos corridos en la tabla de contingencia para estimar si existen diferencias significativas en el tipo de grupo que componen los venados en función del sexo.

| Individuos          | Hembras | Machos |
|---------------------|---------|--------|
| Solitarios          | 640     | 361    |
| Grupos mixtos       | 778     | 598    |
| Grupos un solo sexo | 420     | 173    |
| Total               | 1838    | 1132   |

### 2.3.6 Segregación sexual

El patrón de agregación o segregación entre sexos se analizó utilizando una derivación de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ): el índice SSAS desarrollado por Bonenfant *et al.* (2007), que estima el coeficiente de segregación-agregación sexual, según:

$$SSAS = \frac{1}{N} X^2 = 1 - \frac{N}{XY} \sum_{i=1}^k \frac{x_i y_i}{n_i} \quad (2.2)$$

Donde  $x_i$  es el número de machos en el grupo  $i$ ;  $y_i$  es el número de hembras en el grupo  $i$ ;  $n_i$  es el número de individuos adultos en el grupo  $i$  ( $x_i + y_i$ );  $k$  es el número total de grupos registrados;  $X$  es el número total de machos registrado;  $Y$  es el número total de hembras y  $N$  es el total de adultos ( $X + Y$ ). Solamente se incluyeron los grupos que no incluían individuos indeterminados. Los datos de la composición de los grupos fueron agregados en función del mes sin discriminar el año de muestreo con el fin de analizar la variación en la segregación en función de las variaciones anuales y a su vez poseer un set de datos significativo. El valor del índice SSAS no es indicativo por sí mismo del grado de

segregación o agregación sexual de una población. Para poder estimar esto es necesario comparar el valor SSAS observado, con el esperado frente a la hipótesis de asociación independiente de machos y hembras. Se obtuvo una distribución independiente, con su intervalo de confianza, por medio de la generación de permutaciones (10000) de cada uno de los meses analizado. Estos análisis se ejecutaron en el programa R (R Development Core Team 2009) siguiendo el protocolo del Apéndice desarrollado por Bonenfant *et al.* (2007). Finalmente para estimar si existe una variación significativa entre los datos observados y los esperados (bajo la hipótesis nula de independencia) se realizaron dos procedimientos en función de la hipótesis alternativa que permitieron estimar el valor de P (probabilidad) en función de nuestro grado de significación estadística  $\alpha$  (0,05).

$H_1$  = Los individuos de diferente sexo tienen un comportamiento de **segregación** sexual al conformar grupos.

$$P = \frac{\text{Número } SSAS_{\text{permutaciones}} \text{ igual o } \mathbf{mayor} \text{ que } SSAS_{\text{obs}} + 1}{\text{Número de permutaciones} + 1} \quad (2.3)$$

$H_2$  = Los individuos de diferente sexo tienen un comportamiento de **agregación** sexual al conformar grupos.

$$P = \frac{\text{Número } SSAS_{\text{permutaciones}} \text{ igual o } \mathbf{menor} \text{ que } SSAS_{\text{obs}} + 1}{\text{Número de permutaciones} + 1} \quad (2.4)$$

### 2.3.7 Segregación espacial

Para analizar si en los períodos de segregación sexual (setiembre–noviembre) hay una segregación espacial de los individuos según se

encuentren en grupos exclusivos de hembras, de machos o en grupos mixtos realizamos un test de contingencia  $r \times c$  (Milton & Tsokos 1987). En este caso analizaremos la independencia del tipo de grupo sobre el potrero que ocupa por medio del test exacto de Fisher. Con este test se analiza la asociación entre el tipo de grupo (hembras, machos o mixto) y el potrero que ocupa. Las tablas de contingencia se corrieron en software en línea (Kirkman 1996). Para ello realizamos una tabla para los meses indicados y para cada censo, donde contabilizamos los individuos ocupando cada potrero en función del tipo de grupo que pertenece.

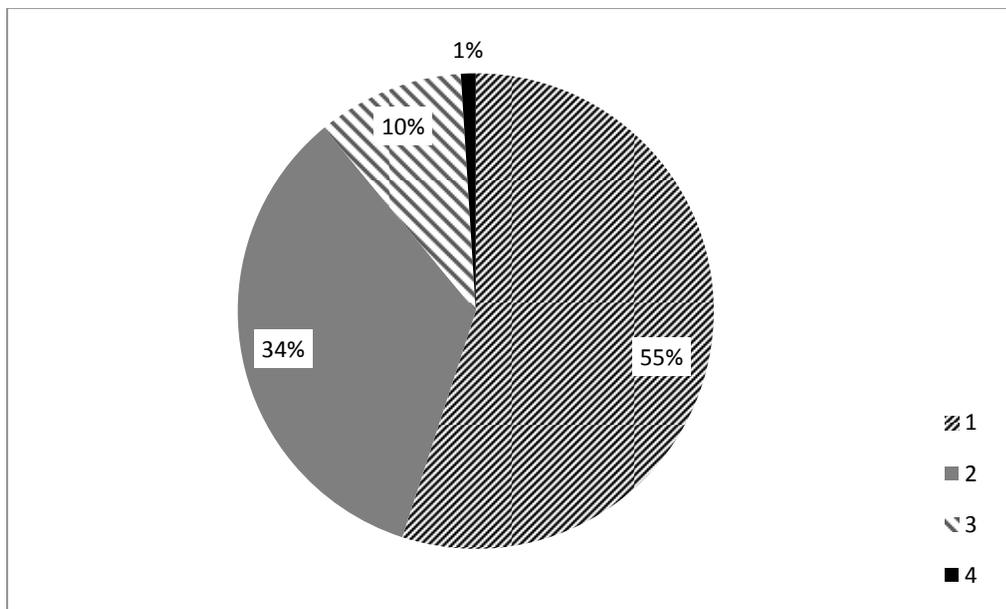
## 2.4 Resultados

### 2.4.1 Parámetros demográficos

Se realizaron 44 censos (Apéndice 2.1) donde se contabilizaron un total de 2149 grupos. La media poblacional por censo fue de 117 individuos con un mínimo de 16, un máximo de 254 y un desvío estándar de 72,7. La relación promedio (a lo largo de todo el período de estudio) de número de machos adultos sobre hembras adultas fue de 0,61; lo que quiere decir que entre los individuos adultos un 60% son hembras y un 40% machos. Esta razón de sexos es significativamente diferente ( $\chi^2 = 167,5$ , GL = 1,  $p < 0,05$ ) de la esperada de 1:1.

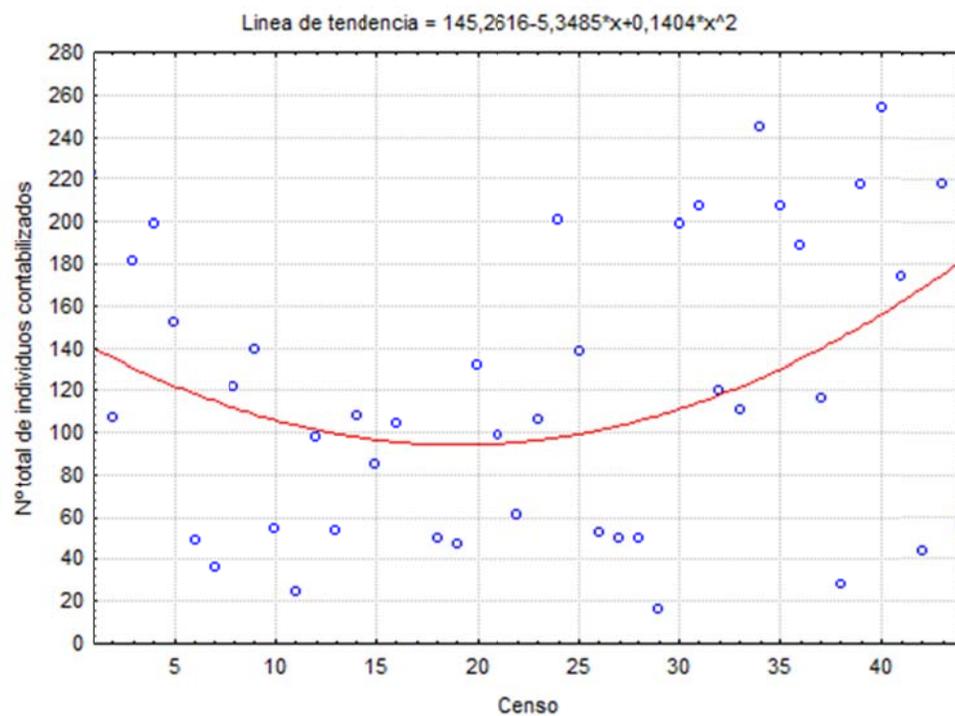
Los valores de densidad observados se detallan en el Apéndice 2.2. La densidad media fue de 0,11 venados por hectárea (11 venados por  $\text{Km}^2$ ), con un valor mínimo de densidad de 0,06, un máximo de 0,54 y un desvío estándar de 0,098.

Considerando el total de individuos contabilizados para cada categoría de edad y sexo en todo el periodo de estudio, sin incluir los individuos indeterminados, se obtuvo una estructura poblacional con 55% de hembras adultas, 34% de machos adultos, 10% de juveniles y 1% de crías (Figura 2.1). La tasa de reclutamiento para la población de Los Ajos (proporción de juveniles sobre proporción de adultos) es de 0,11.



**Figura 2.1:** Estructura demográfica de la población Los Ajos. Leyenda: Hembras (1); Machos (2); Juveniles (3); Crías (4).

La tendencia en el tamaño poblacional promedio a lo largo del período de muestreo observa una caída y una recuperación posterior (Figura 2.2 y Tabla 2.2).



**Figura 2.2:** Gráfico del número de individuos contabilizados a lo largo de los muestreos. La línea de tendencia muestra una reducción en los censos 6 al 18 (años 1997-1998) con una recuperación posterior.

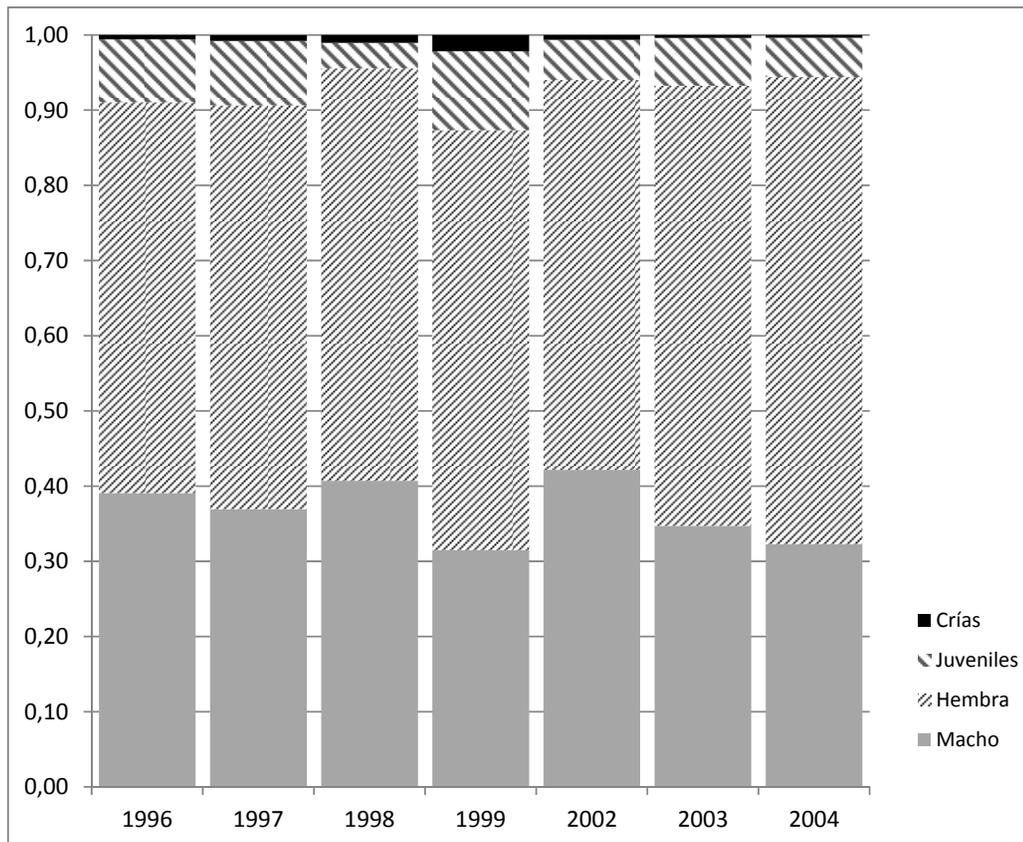
**Tabla 2.2:** Promedio de machos, hembras e individuos totales contabilizados en los siete años de estudio. Entre paréntesis se detalla el número de censos para cada año.

| Individuo     | 1996<br>(N=5) | 1997<br>(N=7) | 1998<br>(N=5) | 1999<br>(N=3) | 2002<br>(N=4) | 2003<br>(N=12) | 2004<br>(N=8) |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
| Indeterminado | 84,8          | 29,85         | 50,6          | 9,33          | 19,5          | 38,58          | 26,5          |
| Macho         | 31            | 15,42         | 9,8           | 20,66         | 40,5          | 31,5           | 35,62         |
| Hembra        | 41,2          | 22,42         | 13,2          | 36,66         | 49,75         | 53,08          | 68,5          |
| Juveniles     | 14,4          | 6,42          | 2,6           | 8             | 6,25          | 8,41           | 7,25          |
| Crías         | 1             | 0,57          | 0,8           | 1,66          | 0,75          | 0,5            | 0,5           |
| Total         | 172,4         | 74,71         | 77            | 76,33         | 116,75        | 132,08         | 138,37        |

Hallamos una correlación estadísticamente significativa, entre proporción de individuos indeterminados-hembras ( $N=44$ ;  $R=-0,85$ ;  $p>0,000001$ ) e indeterminados-machos ( $N=44$ ;  $R=-0,61$ ;  $p>0,000007$ ). La relación entre estos índices de correlación es de 1,37. Se realiza una distribución de individuos indeterminados entre machos y hembras, en función de la proporción de machos y hembras, observados para cada año, para ello se toman los valores anuales medios (Tabla 2.3 y Figura 2.3).

**Tabla 2.3:** Valores medios del número de individuos, resultantes a partir de la distribución de los ejemplares indeterminados entre machos y hembras, en función de la proporción de sexos observada para cada año. Entre paréntesis se detalla el número de censos para cada año.

| Año         | Macho | Hembra | Juveniles | Crías | Total  |
|-------------|-------|--------|-----------|-------|--------|
| 1996 (N=5)  | 67,41 | 89,59  | 14,4      | 1     | 172,4  |
| 1997 (N=7)  | 27,60 | 40,12  | 6,41      | 0,57  | 74,71  |
| 1998 (N=5)  | 31,36 | 42,24  | 2,6       | 0,8   | 77     |
| 1999 (N=3)  | 24,03 | 42,64  | 8         | 1,66  | 76,33  |
| 2002 (N=4)  | 49,25 | 60,50  | 6,25      | 0,75  | 116,75 |
| 2003 (N=12) | 45,87 | 77,30  | 8,41      | 0,5   | 132,08 |
| 2004 (N=8)  | 44,69 | 85,93  | 7,25      | 0,5   | 138,37 |



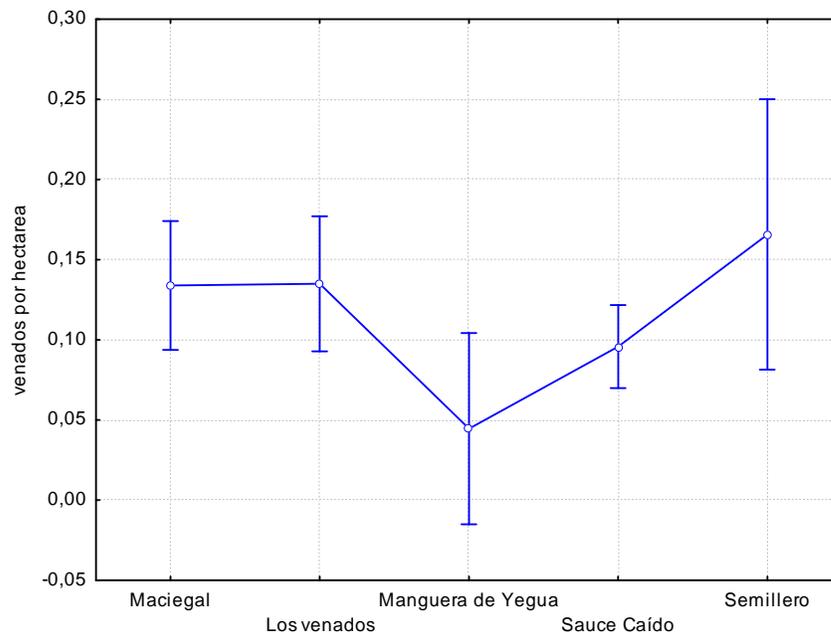
**Figura 2.3:** Proporción global anual de machos, hembras, juveniles y crías.

#### 2.4.2 Individuos capturados

La evaluación de los ejemplares capturados permitió establecer una sobrevivencia de siete años para el ejemplar macho de más edad registrado en vida libre para esta población. Se capturaron ocho hembras de las cuales siete eran mayores de un año. Entre éstas, seis estaban reproductivamente activas (preñadas o lactando), incluso la menor de ellas con 18 meses de edad. La hembra más vieja tenía cinco años y estaba lactando.

### 2.4.3 Densidad en la población Los Ajos

Sobre un total de 110 conteos se obtuvo un valor medio de densidad de 0,11 venados por hectárea con un valor mínimo de 0,006 y máximo de 0,542 (desvío estándar 0,098). El análisis de varianza de la densidad observada en función del potrero fue significativo,  $F(4; 105) = 2,59$ ;  $p = 0,04$  (Figura 2.4).

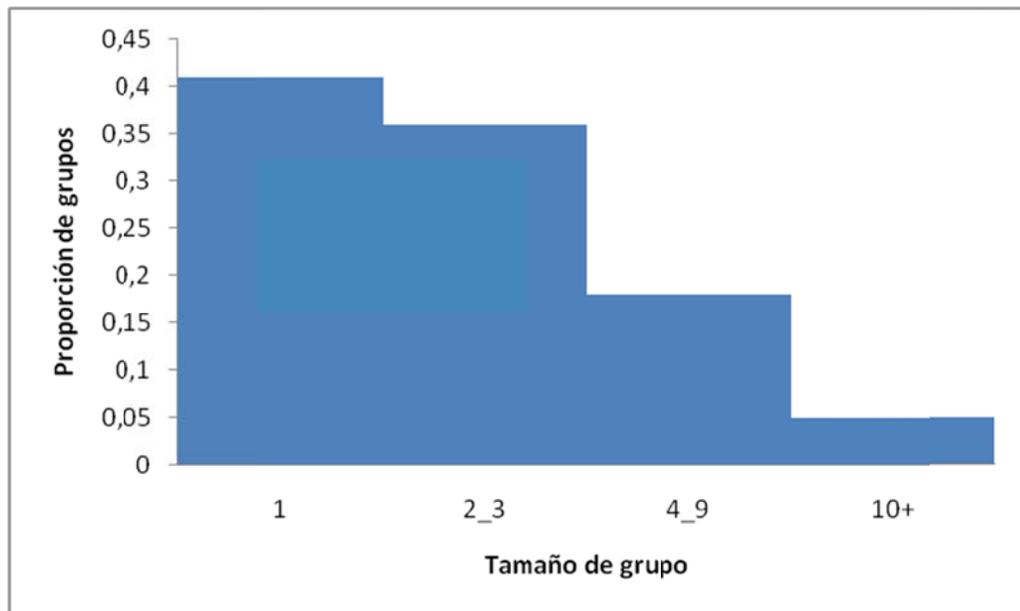


**Figura 2.4:** Valores de densidad medio para cada potrero, las barras verticales marcan el intervalo de confianza.

### 2.4.4 Estructura social y agrupamientos

En el Apéndice 2.1 se recopila la información obtenida de los censos en función de las categorías de grupos y clases de individuos. Sobre un total de 2149 grupos contabilizados se obtuvo una media de tamaño de grupo

de 2,4 con un mínimo de 1 un máximo de 67 y desvío estándar de 3,56. Se observa que más del 40% de los grupos observados se constituían de animales solitarios, un 36% poseían 2-3 individuos y un 24% más de tres individuos (Figura 2.5). No obtuvimos una correlación significativa entre la media en el tamaño de grupo y la densidad por potrero, a nivel global y tampoco por estación. La media del Tamaño de Grupo Típico en 44 censos, fue de 7,18 con un mínimo de 1,8 un máximo de 37,8 y desvío estándar de 7,9.

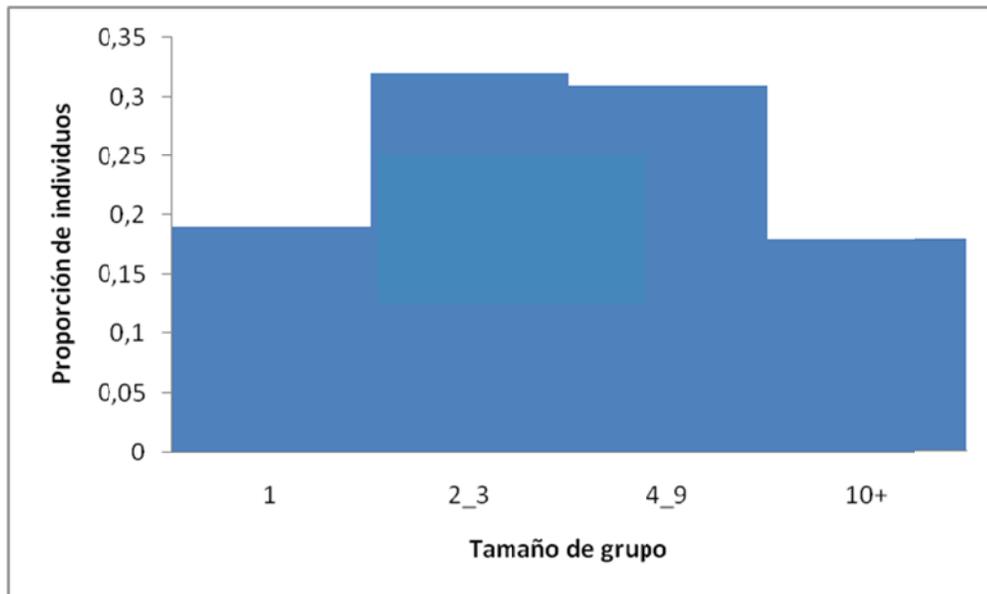


**Figura 2.5:** Proporción de grupos en todo el período de estudio para cada tamaño de grupo.

No se observó una variación significativa en la proporción de grupos de uno, dos y tres individuos en función de la estación o el mes.

A nivel de individuos, el 19% fueron animales solitarios, el 40% conformaban grupos de entre dos y cuatro ejemplares, 19% grupos de entre

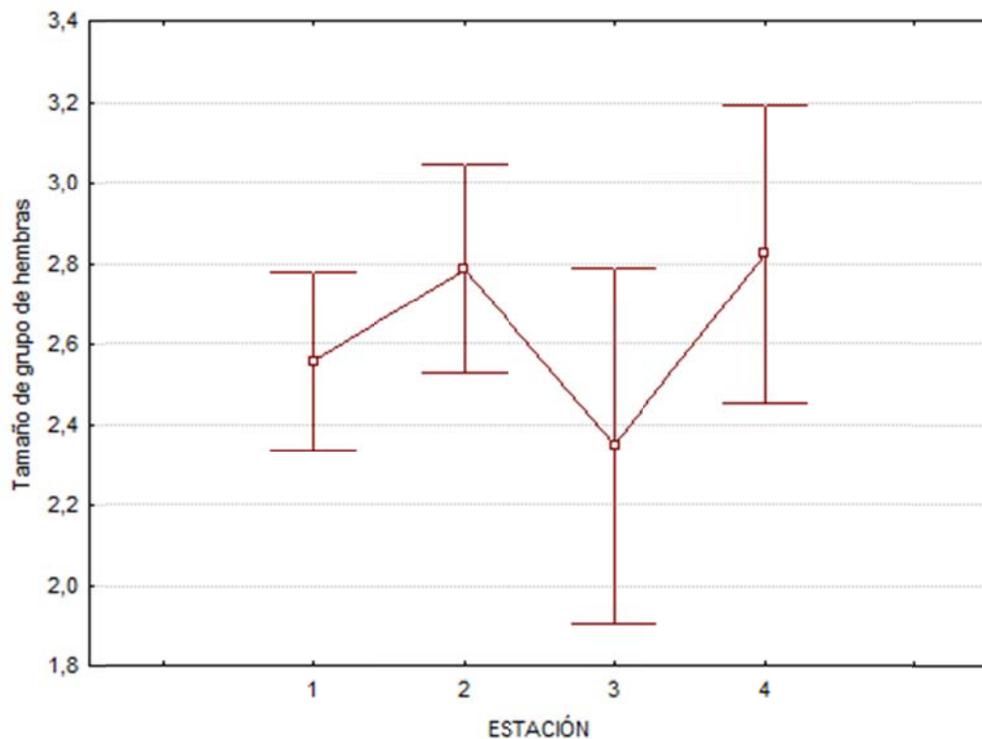
cinco y nueve individuos y un 17% formaban grupos de 10 o más de individuos (Figura 2.6).



**Figura 2.6:** Proporción de individuos en todo el período de estudio para cada tamaño de grupo.

El análisis de varianza en la proporción de individuos en los distintos tamaños de grupo en función de la estación mostró valores estadísticamente significativos para los grupos de entre dos y nueve individuos ( $H=15,03$ ;  $GL=3$ ;  $p=0,0018$ ) y más de diez ( $H=16,84$ ;  $GL=3$ ;  $p=0,0008$ ).

En el período de estudio se contabilizaron 175 grupos exclusivamente de hembras (G1) con una media de 2,7, un valor mínimo de 2 y máximo de 7 y un desvío estándar de 1,1. Observamos una variación significativa en el tamaño de estos grupos en función de la estación: KW ( $GL = 3$ ;  $N = 175$ )  $H = 11,02$ ;  $p = 0,01$ , la primavera es la estación con los grupos de hembras más pequeños (Figura 2.7).

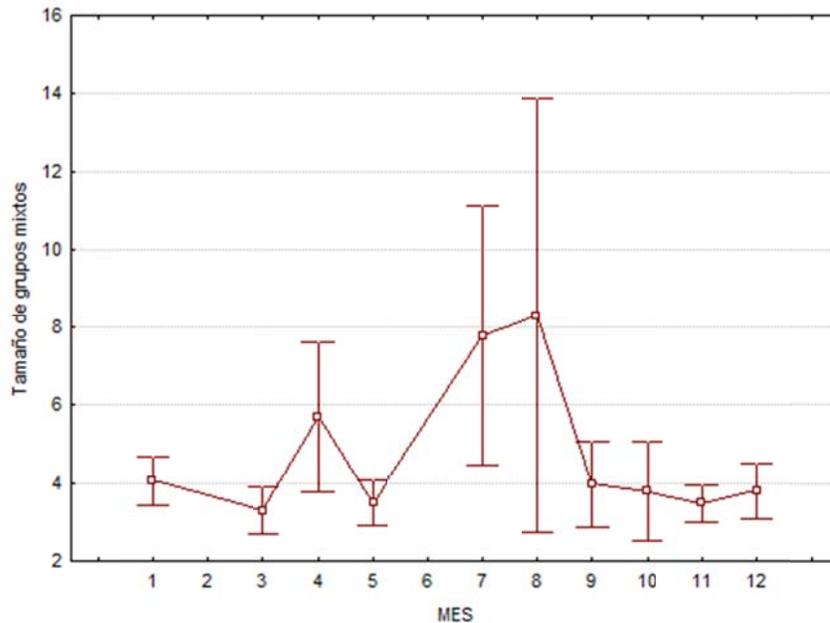


**Figura 2.7:** En la gráfica se observa el valor medio del tamaño de grupo exclusivamente de hembras, por estación, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código de estaciones: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).

Los grupos observados exclusivamente de machos (G2; N = 66), tienen una media de 2,6, un valor mínimo de 2 y máximo de 7 con un desvío estándar de 1,2. No hallamos variación significativa en el tamaño de este tipo de grupo en función de la estación o el mes.

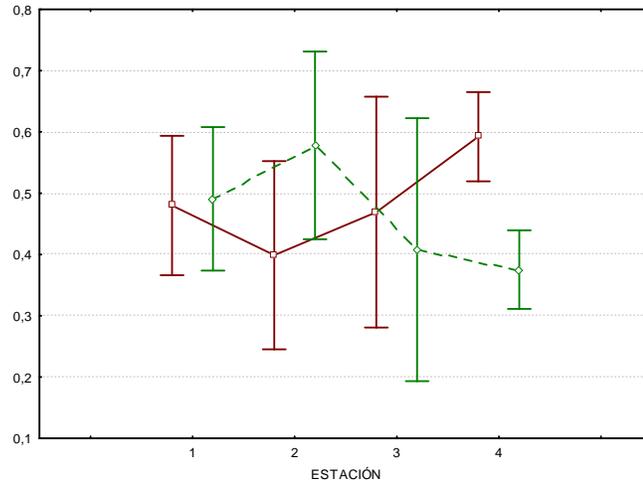
Los grupos clasificados como grupos Mixtos (G3 y G4) en conjunto (N = 391) presentan una media de 4,70 con un valor mínimo de 2, máximo de 67 y un desvío estándar de 6,2. Este grupo muestra diferencias significativas en el análisis de varianza de Kruskal-Wallis en función del

mes (GL = 9, N= 391);  $H = 25,08$   $p = 0,0029$ , con los grupos de mayor tamaño en julio y agosto (Figura 2.8).



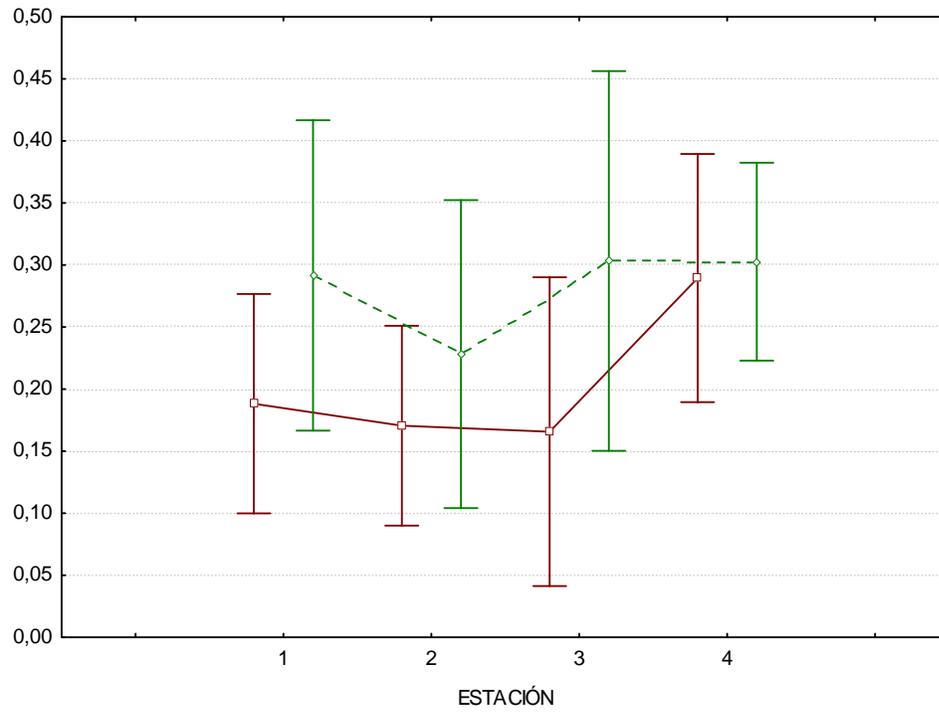
**Figura 2.8:** En la gráfica se observa el valor medio del tamaño de grupos mixtos, por mes, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ).

En verano hay una proporción equivalente de hembras en grupos exclusivos de hembras y grupos mixtos. En otoño (coincidente con la época de apareamiento) hay una mayor proporción de hembras en grupos mixtos, esta proporción cae en invierno y primavera, época que coincide con los nacimientos (Figura 2.9). Dentro de los grupos de hembras, también hay un aumento para las estaciones de nacimiento de hembras solas en relación a los grupos de hembras (Figura 2.10).

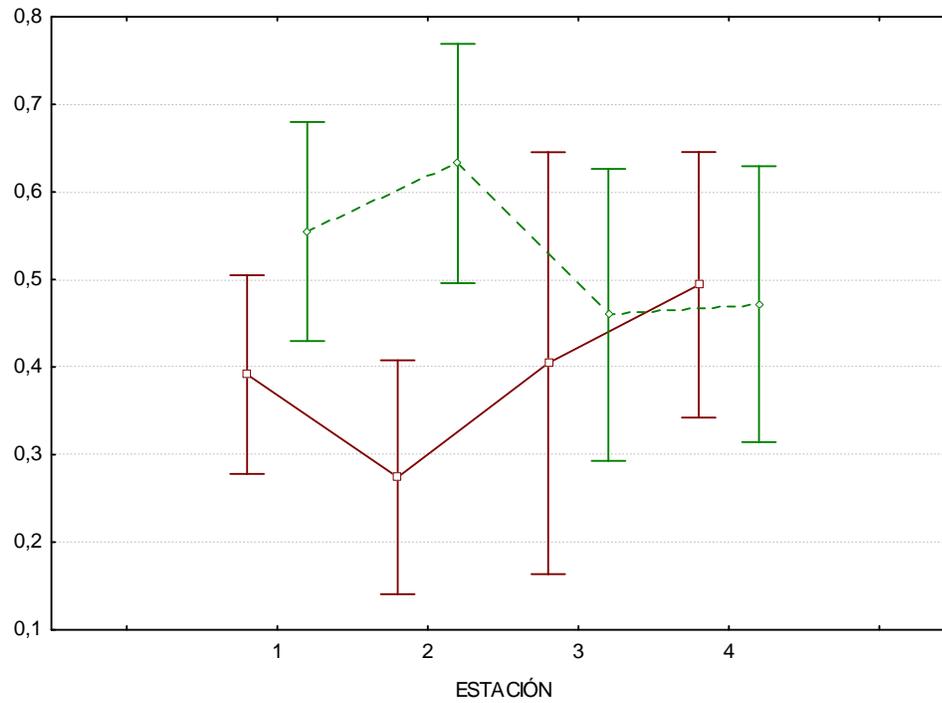


**Figura 2.9:** Proporción de hembras en grupos exclusivos de hembras (●) y en grupos mixtos (●), por estación. Las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código de estaciones: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).

Para los machos también se observa una mayor proporción de individuos en grupos mixtos para la época de otoño (Figura 2.11).



**Figura 2.10:** Proporción de hembras en grupos exclusivos de hembras (●) y solitarias (●), por estación, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).



**Figura 2.11:** Proporción de machos en grupos exclusivos de machos (●) y en grupos mixtos (●), por estación, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).

Dentro de los grupos de machos, a lo largo de todo el año se observa una mayor proporción de machos solos que de machos en grupos (Figura 2.12).

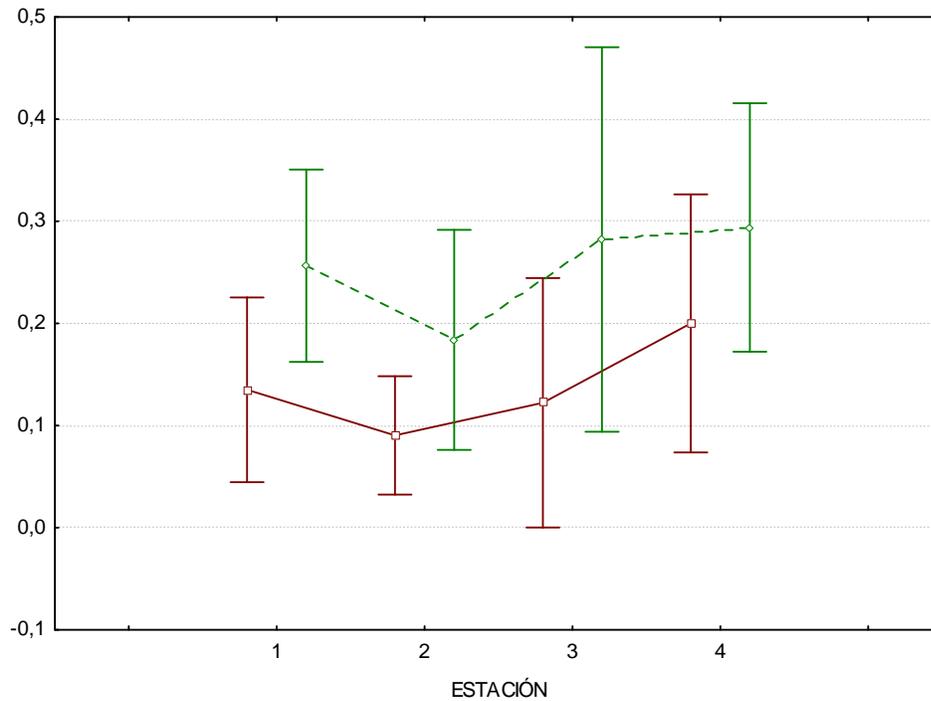
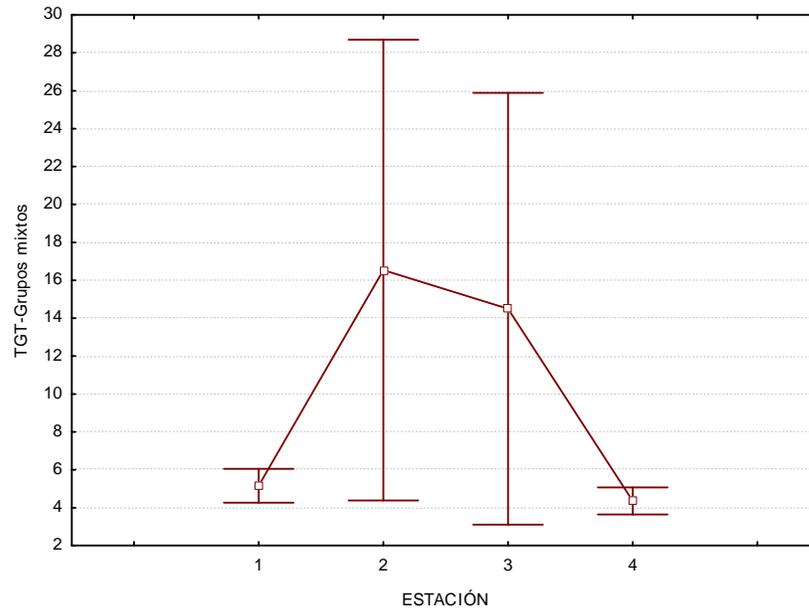


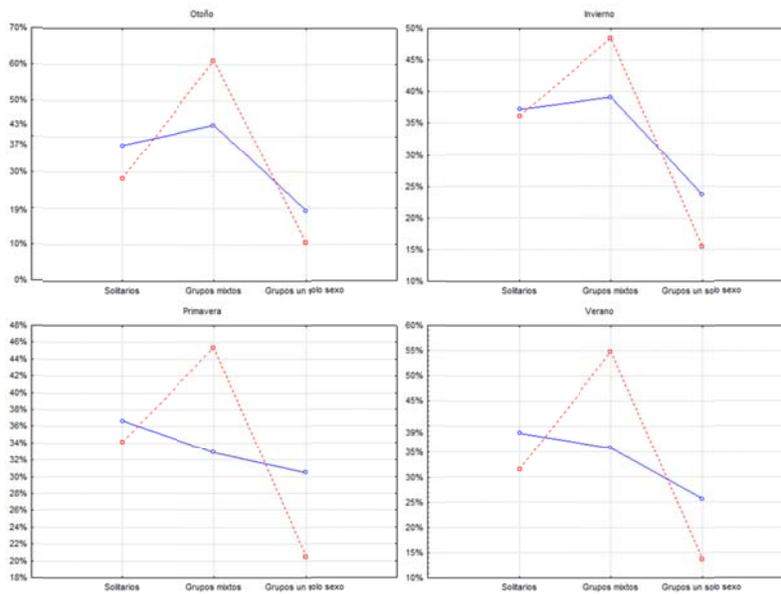
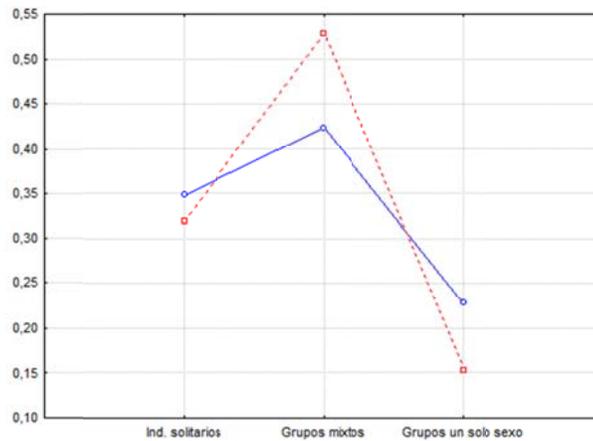
Figura 2.12: Proporción de machos en grupos exclusivos de machos (●) y solitarios (●), por estación, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código de estaciones: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).

El Tamaño de Grupo Típico (TGT) mostró una variación estacional, estadísticamente significativa, para los grupos mixtos (ANOVA de Kruskal-Wallis:  $H(3, N=43) = 10,88$   $p = 0,0124$ ) (Apéndice 2.3; Figura 2.13). Sin embargo, no fue significativo para el tamaño de grupo de machos o hembras.



**Figura 2.13:** En la gráfica se observa el valor medio de tamaño típico de grupo por estación, las barras laterales indican el intervalo de confianza ( $\pm 0,95$ ). Código de estaciones: verano (1); otoño (2); invierno (3); primavera (4).

Encontramos diferencias significativas en la conformación del tipo de grupo (individuos solitarios; grupos mixtos; grupos de un único sexo) según sexo (Apéndice 2.4), ( $\chi^2 = 38,5$ ; GL = 2;  $p < 0,000$ ) (Figura 2.14).



**Figura 2.14:** Proporción de machos (●) y hembras (●) en los distintos tipos de grupos (solitarios; mixtos; de un único sexo). Arriba: todo el año, abajo cuadrantes por estación, superior izquierda: otoño; superior derecha: invierno; inferior izquierda: primavera; inferior derecha: verano.

#### 2.4.5 Relación entre estructura poblacional y densidad

En la Tabla 2.4 se detallan los valores de tamaño de grupo (media), densidad y tasa de sexos (M/H) para diversas poblaciones de venado de

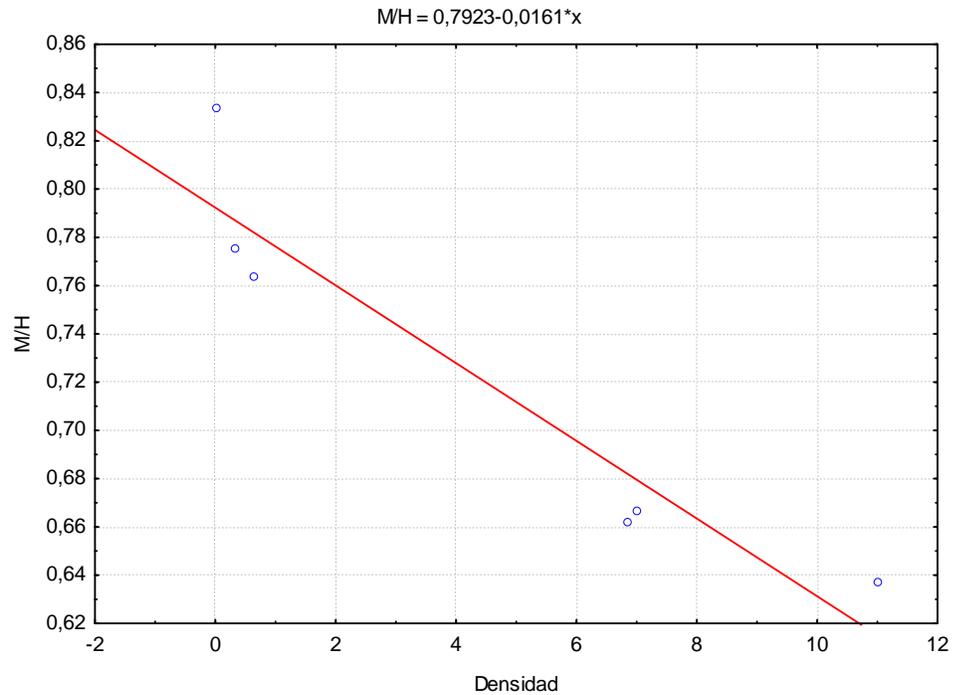
campo de Argentina, Brasil y Uruguay (Braga 2004; Dellafiore *et al.* 2003; Lacerda 2008; Merino & Beccaceci 1999a; Moore 2001; Netto *et al.* 2000; Pérez Carusi *et al.* 2009; Redford 1987).

**Tabla 2.4:** Detalle para distintas poblaciones de venado de campo de la media del tamaño de grupo, densidad en km<sup>2</sup> y la tasa de sexos (machos/hembras). Se incluye información de localización geográfica de cada población (latitud-longitud).

| Población            | Autor                           | Latitud      | Longitud     | Tamaño poblacional | Media del tamaño de grupo | Densidad Venados/ km <sup>2</sup> | M/H         |
|----------------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------------|---------------------------|-----------------------------------|-------------|
| Corrientes           | Merino & Beccaceci 1999         | 28,08        | 56,33        | 170-220            | 1,7                       | 0,39                              | -           |
| San Luis             | Dellafiore <i>et al.</i> 2003   | 34,22        | 65,44        | 500-1200           | 1-12                      | 0,63                              | 0,76        |
| Bahía de Samborombón | Pérez Carusi <i>et al.</i> 2009 | 35,30        | 56,45        | 251-445            | -                         | 1,1                               | -           |
| <b>Los Ajos</b>      | <b>Presente trabajo</b>         | <b>33,50</b> | <b>54,01</b> | <b>117</b>         | <b>2,4</b>                | <b>11</b>                         | <b>0,61</b> |
| El Tapado            | Moore 2001                      | 31,36        | 56,43        | 1000               | 2,2                       | 7                                 | 0,67        |
| Emas                 | Netto <i>et al.</i> 2000        | 18,15        | 52,53        | 1100               | 1,3                       | 0,32                              | 0,78        |
| Paraná               | Braga, 2004                     | 25,34        | 49,49        | 72                 | 2,3                       | 0,03                              | 0,83        |
| Pantanal             | Lacerda 2008                    | 19,57        | 56,25        | 60000              | 2,1                       | 6,85                              | 0,66        |

Los resultados de la correlación de Spearman entre estas variables (latitud, longitud, media de tamaño de grupo, densidad y proporción de sexos) mostró significación estadística solamente entre las variables proporción de

sexos y densidad (N=6; Spearman= -0,94;  $t(N-2) = 5,65$ ;  $p=0,0048$ ) (Figura 2.15).

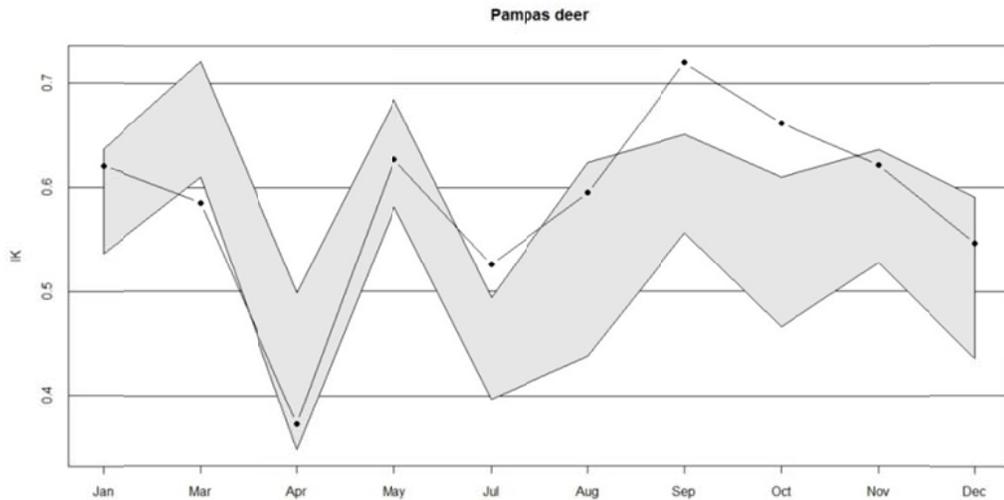


**Figura 2.15:** Gráfica de la correlación con significación estadística de la tasa de sexos (M/H) y la densidad ( $M/H = 0,7923 - 0,0161 * x$ ).

#### 2.4.6 Análisis de segregación-agregación sexual

El análisis de segregación-agregación sexual muestra cuatro instancias donde se observa un patrón de asociación de machos y hembras no aleatorio (Apéndice 2.5). En marzo se observa un comportamiento de agregación sexual, mientras que para julio, setiembre y octubre el patrón observado corresponde a un proceso de segregación entre sexos (Figura 2.16). En ambos sexos se dan requerimientos energéticos especiales que posiblemente sean los que inciden en la segregación sexual. En este

período en las hembras comienza la época de nacimientos y en los machos están en pleno desarrollo y crecimiento de las astas.



**Figura 2.16.** Patrón anual de segregación/agregación sexual en venado de campo (Los Ajos) utilizando el estadístico SSAS. Cuando el valor observado cae encima o debajo del área sombreada indica un patrón de segregación o agregación con significación estadística.

#### 2.4.7 Análisis de segregación espacial.

Se encontró una asociación por medio del test exacto de Fisher (Apéndice 2.6), entre el tipo de grupo y el potrero que ocupan, para algunos momentos específicos (Tabla 2.5)

**Tabla 2.5:** Se detallan los censos en los períodos con segregación entre sexos donde se observó segregación espacial entre machos y hembras.

| Censo             | p     |
|-------------------|-------|
| Julio de 1998     | 0,715 |
| Setiembre de 2002 | 0,002 |
| Julio de 2003     | 0,000 |
| Setiembre de 2003 | 0,024 |
| Octubre de 2003   | 0,001 |
| Setiembre de 2004 | 0,000 |

## 2.5 Discusión

### 2.5.1 Parámetros demográficos

En el transcurso del período de estudio, se observaron variaciones importantes en el número de individuos contabilizados por día de muestreo ( $\bar{x}=117$ ;  $DS=73$ ). Las variaciones detectadas pueden deberse a distintos factores que afectan la visibilidad de los individuos (cultivos impuestos, cargas ganaderas, hora de muestreo).

Esta información, si bien tiene un sesgo al determinar el tamaño poblacional, marca la tendencia de esta variable en todo el período de estudio. La tendencia del tamaño poblacional (Figura 2.2) muestra una reducción consistente en el número de ejemplares contados para los censos 6 al 8 (años 1997–1998). A partir de ese punto hay un incremento en el número de individuos registrados.

Desde el punto de vista metodológico, se observó un aumento en el número de individuos de sexo indeterminado en el momento de la caída de astas. La correlación significativa en el porcentaje de individuos indeterminados, hembras y machos a lo largo de las estaciones nos permite establecer que tanto machos como hembras fueron asignados a la categoría indeterminados. Procedimos entonces a la asignación de individuos de la categoría indeterminado, en igual proporción que la tasa de sexos a las categorías machos y hembras.

A partir de la estimación de los parámetros demográficos obtuvimos los siguientes estimativos poblacionales:

|                              |                  |
|------------------------------|------------------|
| Índice poblacional           | $\bar{x} = 117$  |
| Estructura de sexo y edades  | 49♂♂:64♀♀:11juv. |
| Tasa media de reclutamiento  | $\bar{x} = 0,08$ |
| Edad de primera reproducción | 1,5 años         |
| Tamaño de camada             | 1 cría/♀         |

Los datos obtenidos marcan una estructura poblacional con un 55% de hembras adultas, un 34% de machos adultos (total de adultos de 89%), 10% de juveniles y un 1% de crías (Figura 2.17). Estos datos son concordantes con los obtenidos para esta población por González (1997) a partir de un año de muestreo entre Julio de 1994 y Agosto de 1995, donde se halló una media de 122 (DS = 19,7). Con una estructura poblacional de 51,5 % de hembras adultas, un 31,3% de machos adultos, 7% de juveniles y un 1,7% de crías (13,27 fueron indeterminados).



**Figura 2.17:** Pirámide demográfica obtenida en este estudio para la población Los Ajos.

Este tipo de pirámides poblacionales son características de las poblaciones con una estrategia de vida del tipo K, donde el número de individuos se encuentra cercano a la capacidad de carga, hay una fuerte selección por los recursos y una importante longevidad. De manera que el tamaño poblacional se encuentra estabilizado por una estructura de individuos mayores y un fracaso en el reclutamiento de individuos jóvenes. Estos resultados son coincidentes con los hallados para la población de Emas en Brasil donde se estimó que los adultos constituían entre el 85 y el 97,7% la población (Redford 1987; Schaller & Duplaix-Hall 1975). Así como reportes en la población El Tapado, donde se estimó una tasa de mortalidad de 0,4 antes de llegar a los dos años de edad (Moore 2001).

La estructura de edades no es un indicativo *per se* de la tendencia en el tiempo de la población o de si la misma está cercana a su capacidad de carga, por lo cual es necesario incorporar información de otros parámetros poblacionales (McCullough 1978). Si bien la muestra es pequeña, las observaciones que se desprenden de la captura de 14 ejemplares son interesantes. El primer dato informativo es el de un macho con siete años de edad, el individuo más viejo registrado en vida libre para esta población. La hembra más vieja con cinco años estaba lactando. Se capturaron ocho hembras de las cuales siete eran mayores de un año. Entre éstas, seis estaban reproductivamente activas (preñadas o lactando), incluso la menor de ellas con 18 meses de edad.

### 2.5.2 Proporción de sexos

En cautiverio (Ungerfeld *et al.* 2008) se ha registrado una tasa sexual en los nacimientos de 1:1 para esta especie. En la población Los Ajos observamos en promedio una relación de sexos de 0,61 (machos sobre hembras), la misma que la observada por González (1997) para esta población entre 1994–1995. No conocemos la proporción al nacimiento en Los Ajos, puede ser que las mismas tengan un sesgo a favor de las hembras, o que haya una mortalidad diferencial en los machos durante los primeros años de vida.

Las explicaciones al fenómeno de proporción diferencial entre sexos en el seno de la población, deben relacionarse con diferencias comportamentales y/o fisiológicas entre machos y hembras: i) Una de las causas puede ser el efecto deletéreo causado por la presencia en simple dosis de genes asociados al cromosoma X; ii) Otra explicación es que haya una tendencia diferencial entre los sexos, donde los machos se dispersen (comportamiento que conlleva un alto costo energético y mayor mortalidad) (Coulon *et al.* 2006) mientras que las hembras exhiban mayor filopatría. Este fenómeno se observa en muchas especies como estrategia para evitar la endogamia (Perrin & Mazalov 1999); iii) Entre las explicaciones originadas en diferencias comportamentales entre los sexos, el comportamiento agonístico<sup>4</sup> de los machos podría aumentar el grado de estrés fisiológico (Garcia

---

<sup>4</sup> El comportamiento agonístico se caracteriza por las interacciones de lucha y escape, entre individuos del mismo sexo, comúnmente observado entre machos en la época de celo.

Pereira *et al.* 2006; Loison *et al.* 1999) sensibilizando a los individuos frente a patógenos; iv) Se ha observado en algunas especies de ungulados en vida libre, una relación entre la buena disponibilidad de recursos y un sesgo en las tasas de sexos. Sin embargo los mecanismos que subyacen a este fenómeno no están aún del todo claros. Si bien algunos autores plantean mecanismos de implantación diferencial según el sexo de embriones en función de las condiciones nutricionales de la madre, otros sugieren una mortalidad diferencial entre machos y hembras en los primeros meses de vida, ya sea determinados exclusivamente por condicionantes fisiológicas relativas a su sexo o por una inversión diferencial del cuidado materno (Bonenfant *et al.* 2003; Kruuk *et al.* 1999).

Para el venado de campo hay una correlación significativa entre la proporción de sexos y la densidad poblacional (Tabla 2.6 y Figura 2.19). Se observa entonces reducción en el número de machos a mayor densidad. Estos resultados concuerdan con aquellas hipótesis que determinan la tasa sexual en función de la disponibilidad de recursos o comportamiento agonístico. Desde el punto de vista del manejo, es importante poder esclarecer los factores que determinan este sesgo y analizar el efecto que tiene la tasa de sexos sobre el sistema de apareamiento y el número efectivo de la población.

### 2.5.3 Sistema de apareamiento

El sistema de apareamiento es una consecuencia de las tácticas y estrategias individuales más que una característica innata de una población o especie, y está condicionado por factores tanto filogenéticos como

ecológicos (Clutton-Brock 1989; Emlen & Oring 1977). En un sistema de poliginia (donde un macho se aparea con varias hembras) debe haber una Tasa de Sexos Operacional (TSO)<sup>5</sup> mayor a uno, es necesario también que haya una agregación de hembras y que los machos tengan la capacidad de monopolizarlas (Emlen & Oring 1977). Incluyendo este aspecto, podemos pensar que en la población de Los Ajos estamos frente a un sistema de poliginia: i) hay más hembras que machos; ii) la proporción de hembras fértiles parecería estar próximo al 85%, o sea que la relación de TSO (si todos los machos fueran sexualmente activos) sería de 42♂♂:51♀♀. Esta TSO sería la más pesimista para pensar en poliginia, ya que se debe considerar que no todos los machos tengan acceso a hembras. Se ha observado en individuos de cautiverio (Estación de Cría de Pan de Azúcar) una variación tanto cuali como cuantitativa, de los lípidos secretados por las glándulas preorbital, tarsal e interdigital, que generan un perfil individual característico, con variaciones estacionales (Ungerfeld *comm per*). La existencia de variación en las secreciones glandulares, en función del *estatus social*, puede otorgar a algunos animales un olor particular que actúe como una señal, para hembras y machos subordinados, de que un macho dominante se encuentra en la zona (Gassett *et al.* 1996; Johansson & Jones 2007; Langguth & Jackson 1980). En esta misma línea, Moore (2001) halló diferencias notables en el tamaño y estructura de astas de individuos machos nacidos en el mismo

---

<sup>5</sup> La Tasa de Sexos Operacional (TSO) se refiere al número de hembras fértiles en relación a machos sexualmente activos.

año, lo que podría estar indicando diferencias fisiológicas generadas a partir del rango social (dominancia). Pereira *et al.* (2005) no encontraron diferencias significativas en la concentración de testosterona fecal entre individuos pertenecientes a grupos de diferente tamaño.

#### 2.5.4 Estructura social

En la población Los Ajos el 62% de los individuos se encuentra formando grupos de 2-9 individuos; mientras que los individuos solitarios y grupos de 10 o más ejemplares comprenden un 19% y 17% respectivamente, de la población.

El valor medio del tamaño de grupo y el valor medio del Tamaño de Grupo Típico fueron de 2,4 y 7,2. El patrón de agrupamiento observado cae en la Clase B dentro de las categorías de Jarman (1974) donde los grupos más comunes son de uno a una docena de individuos pero siendo los más frecuentes los de tres a seis. El rango de masa corporal del grupo B va desde los 10 a más de 100 kg. Estas especies tendrían un estilo de alimentación del tipo b. Según la descripción del autor, el mismo se caracteriza por el consumo, ya sea de gramíneas o de plantas herbáceas, seleccionando la parte o el estado fenológico de alto valor nutritivo. El venado de campo tiene un comportamiento de forrajeo oportunista (Cosse *et al.* 2009; González *et al.* 2010; Jackson & Giulietti 1988; Pinder 1997; Rodrigues & Monteiro-Filho 1999; Vila *et al.* 2008), que cae en la categoría de *mixed feeders* de Hofmann (1989) y concuerda también con el estilo tipo b descrito por Jarman (1974).

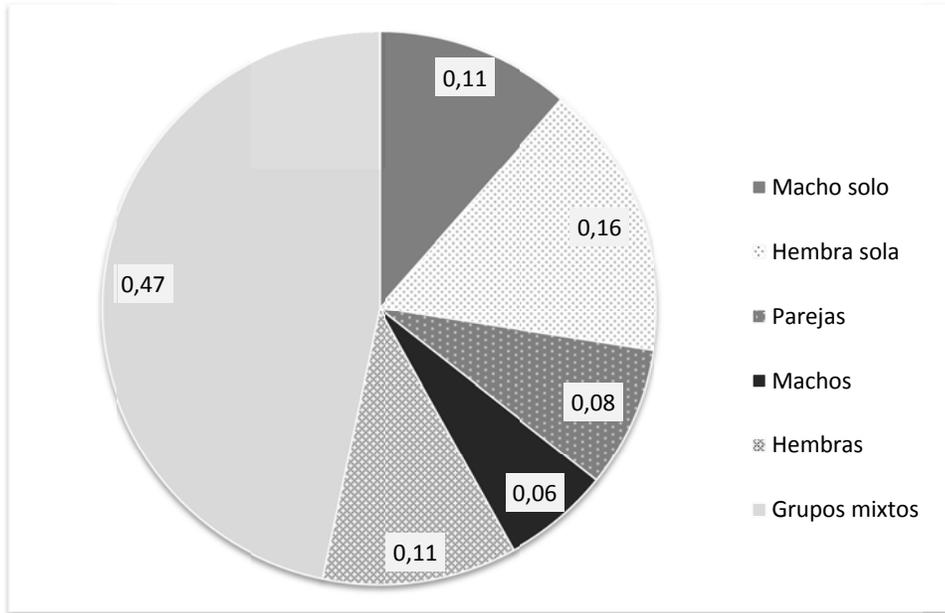
Jarman (1974) propone entonces que en función de la categoría de la especie, ésta presentará un tamaño de grupo dado y que en el caso de la categoría B, habrá una cierta variación estacional en el tamaño de grupo. Mientras que Caughley (1964) sostiene que los grupos son agregaciones inestables, donde el tamaño de grupo dependerá de la probabilidad de dos individuos de detectarse (Pays *et al.* 2007).

Muchos autores que describen diferentes poblaciones de venado de campo, especifican el valor medio de tamaño de grupo, es así que tenemos datos que mencionan que los grupos son de entre 1-12 individuos para San Luis (Dellafiore *et al.* 2003), otros autores, tanto para poblaciones Argentinas como Brasileñas, plantean un valor medio de individuos en los grupos que va desde 1,36 a 5,5 (Eisenberg 2000; Merino & Beccaceci 1999; Mourão *et al.* 2000; Pereira *et al.* 2005). Pinder (1992) observa en el Pantanal, una unidad social básica conformada por un macho adulto dominante, un número variable de hembras y sus crías. Mientras que los machos sub-adultos se encontrarían solos o en grupos, ocupando áreas pertenecientes a distintos machos dominantes. Según Pereira *et al.* (2005) la distribución y disponibilidad de alimento parece ser un elemento asociado al patrón de agrupamiento, ya que los autores encuentran que las grandes agregaciones se corresponderían a grupos de alimentación en áreas de buena disponibilidad de pasturas como son los parches de rebrotes luego de la quema.

En la población Los Ajos, la proporción de grupos para cada categoría de tamaño de grupo no varía en función de la estación o el mes. Esto nos muestra un escenario estable donde la mayor parte de los grupos tienen 2

a 9 individuos, hay una importante proporción de grupos de un solo individuo y en menor medida se observan asociaciones de 10 o más individuos. La proporción de individuos solitarios no varía en función de la estación, aunque sí varía la proporción de individuos en grupos de 2-9 individuos (62% de la población) y el de 10 o más individuos. Durante los meses de primavera e invierno decrecen los grupos pequeños mientras que aumenta la formación de grupos mayores. En la población Los Ajos estamos observando un tipo de agrupamiento constituido mayormente de unidades básicas de entre 2-4 individuos (41% de los individuos) que se asociarían en grupos de alimentación, conformando los mayores grupos en otoño e invierno.

El análisis de la composición promedio de los grupos, excluyendo a los individuos indeterminados, muestra que el 47% de los individuos adultos se encuentran formando grupos de más de dos individuos y mixtos. El 16% se compone de hembras que se observan solitarias. Un 11% está conformado de machos solos e igual porcentaje se observa para hembras en grupos. La menor cantidad de individuos se distribuye en conformación de parejas y grupos de varios machos (Figura 2.18).



**Figura 2.18:** Gráfica con los valores promedio de la proporción de individuos en las distintas categorías de grupos, sin incluir los individuos indeterminados.

Cuando observamos cómo se distribuyen, tanto hembras como machos, entre las diferentes categorías de grupos incluyendo la proporción observada en todo el período de estudio, vemos que en torno al 20% de los individuos en ambos sexos, se encuentra solitario. A su vez una mayor proporción de machos (42%) que de hembras (35%) conforma grupos mixtos. A la inversa, habría una mayor proporción de hembras (23%) conformando grupos exclusivos de hembras que machos formando grupos de machos (15%).

Pereira *et al.* (2005) encuentran que los valores medios de grupo observado para la población Las Emas (de 2,74 que caen en la media de lo observado para Argentina y Uruguay), contradicen lo propuesto por Putman (1988) de que en ambientes más abiertos se forman grupos de

mayor tamaño en relación a los ambientes más cerrados, y plantean que el bajo nivel de agregación observada se relaciona con la inestabilidad de los grupos y la baja densidad, características también encontradas por Netto *et al.* (2000) y Jackson & Langguth (1987). Sin embargo, la razón por la cual el tamaño de grupo es dependiente de la densidad, es la misma que determina que es dependiente del grado de apertura del ambiente: aumenta la probabilidad de que dos individuos cualesquiera se encuentren (Pays *et al.* 2007). Por otro lado, el análisis detallado de la densidad observada por potrero y el tamaño de grupo, muestra que no hay una correlación significativa para la población Los Ajos. Mientras que tampoco se observa una correlación significativa en los valores medios de tamaño de grupo y la densidad a nivel inter-poblacional. No aceptamos entonces, la hipótesis de que el tamaño de grupo varía en función de la densidad poblacional.

La hipótesis sobre la variación del tamaño de grupo en función del período del año es aceptada parcialmente, ya que no habría una variación en las unidades básicas (individuos solitarios y grupos de dos y tres individuos), si no que habría una variación en el patrón de formación de grupos de alimentación (agregación de unidades básicas) en otoño e invierno.

Si pensamos que cada individuo tiene (en función de las condiciones del ambiente y de sus requerimientos, determinados por la edad, sexo y estado reproductivo) un tamaño de grupo óptimo, vamos a detectar diferencias significativas en el tamaño de grupo en función de estas variables. El tamaño medio de grupo varió significativamente entre los grupos exclusivamente de hembras, que se vieron minimizados en el período de

nacimientos. El Tamaño de Grupo Típico (TGT) varió en función de la estación solamente para los grupos del tipo mixto y de la misma manera que la media del tamaño de grupo, aumenta en otoño e invierno. Los TGT para los grupos de un único sexo, son siempre un poco mayores para las hembras y no presentan una variación significativa a lo largo del año. Hay una diferencia estadísticamente significativa en la distribución en grupos (solitarios, del mismo sexo o mixtos) en función del sexo. Una mayor proporción de hembras que de machos se encuentran solas o en grupos de su mismo sexo. Mientras que los machos presentan una mayor proporción de individuos conformando grupos mixtos. La asociación de varios machos es un comportamiento que se ve mayormente circunscripto a la época de caída de las astas.

Por lo anterior, las hipótesis que plantean que los individuos de distinto sexo presentarán variaciones significativas en el tipo de grupo que componen, así como que los individuos variarán en el tamaño de grupo que componen en función del estado reproductivo; no pueden ser, en base a nuestros resultados, rechazadas.

#### 2.5.5 Agregación-segregación sexual

Cuando analizamos el grado de segregación o agregación sexual y su variación en relación a los diferentes momentos reproductivos, vemos que en la población Los Ajos, la asociación en los grupos observados es, en términos generales, independiente del sexo. Sin embargo hay dos momentos donde el índice SASS muestra cambios en la asociación entre machos y hembras: i) se encontró una tendencia a la agregación entre sexos en el

entorno del mes de marzo coincidiendo con el período de apareamiento (febrero-marzo); ii) en el período de setiembre-octubre se observa una segregación significativa entre los sexos, momento que coincide con el pico de nacimientos y el crecimiento de las astas en los machos. También se observa para estos meses una segregación espacial entre los grupos exclusivamente de un solo sexo.

Esta segregación entre sexos se representó también en la proporción de hembras y de machos que conformaban grupos de su mismo sexo y grupos mixtos (Figura 2.18). El patrón observado parece no asociarse con diferencias generadas por el dimorfismo sexual, ya que la segregación se circunscribe a un momento reproductivo y fisiológico muy específico. Para cada muestreo hay potreros donde es más acentuada la segregación de sexos. Si se pudiera caracterizar la existencia de heterogeneidad de estos ambientes podríamos aproximarnos a establecer si el patrón observado se debe a la hipótesis de *riesgo de predación* (Ruckstuhl & Neuhaus 2000) con las hembras con crías pequeñas en hábitats más seguros mientras que los machos optarían por pasturas de mejor calidad para suplir los requerimientos nutricionales en el momento de desarrollo de las astas. Si no hay diferencias entre los potreros tendríamos que pensar que la segregación es generada por una afinidad social (Clutton-Brock *et al.* 1987).

La estructura social de una especie o de una población va a estar determinada por el grado de segregación sexual, y los factores determinantes de la misma. A su vez estas características van a determinar el número efectivo de la población que se relaciona directamente con el

mantenimiento del acervo genético. Es importante destacar que diversas características del hábitat que ocupan pueden determinar tanto el tamaño del grupo como el grado de segregación que se observe entre los sexos (Michelena *et al.* 2004). Muchos aspectos de la organización social y de la ecología de poblaciones, incluida la estructura genética de poblaciones difieren a escala regional, en respuesta a los diferentes hábitats (Putman 1988).

#### 2.5.6 Densidad poblacional

El análisis de correlación entre densidad poblacional, longitud y latitud geográfica, tamaño de grupo y tasa de sexos entre diferentes poblaciones de la especie, reveló una relación estadísticamente significativa entre densidad y razón de sexos. A menor densidad se observa un mayor número de machos por hembras, mientras que en la medida que aumenta la densidad poblacional se reduce el número de machos. Es interesante profundizar en los patrones de dispersión y estructura social en esta especie para abordar los aspectos del sistema de apareamiento, la existencia de jerarquías sociales entre machos, su vinculación con el acceso a las hembras y la existencia de diferentes grados de poliginia entre poblaciones.

## 2.6 Bibliografía

- Bonenfant C, Gaillard J-M, Dray S, Loison A, Royer M, Chessel D. 2007. Testing sexual segregation and aggregation: old ways are best. *Ecology* 88:3202-8
- Bonenfant C, Gaillard J-M, Loison A, Klein F. 2003. Sex-ratio variation and reproductive costs in relation to density in a forest-dwelling population of red deer (*Cervus elaphus*). *Behavioral Ecology* 14:862-9
- Braga FG. 2004. Influência da agricultura na distribuição espacial de *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758) (veado campeiro), em Pirai do Sul, Paraná - parâmetros populacionais e uso do ambiente. M.Sc. dissertation. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 61 pp.
- Caro TM. 1998. *Behavioral ecology and conservation biology*. New York: Oxford University Press. 582 pp.
- Caughley G. 1964. Social organization and daily activity of the red kangaroo and the grey kangaroo. *Journal of Mammalogy* 45:429-36
- Caughley G. 1994. Directions in Conservation Biology. *Journal of Animal Ecology* 63:215-44
- Clutton-Brock TH. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 236:339-72
- Clutton-Brock TH, Coulson T. 2002. Comparative ungulate dynamics: the devil is in the detail. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 357:1285-98
- Clutton-Brock TH, Guinness FE, Albon SD. 1982. *Red deer: behavior and ecology of two sexes*. Chicago: University of Chicago Press
- Clutton-Brock TH, Iason GR, Guinness FE. 1987. Sexual segregation and density-related changes in habitat use in male and female Red deer (*Cervus elaphus*). *Journal of Zoology* 211:275-89
- Cosse M, González S, Gimenez-Dixon M. 2009. Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia* 99:158-64
- Coulon A, Cosson J-F, Morellet N, Angibault J-M, Cargnelutti B, et al. 2006. Dispersal is not female biased in a resource-defence mating

- ungulate, the European roe deer. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273:341–8
- Dellafiore C, Demaría M, Maceira N, Bucher E. 2003. Distribution and abundance of the pampas deer in San Luis province, Argentina. *Mastozoología Neotropical* 10:11–47
- Eisenberg JF. 2000. The contemporary Cervidae of Central and South America. In *Antelopes, deer, and relatives: fossil record, behavioral ecology, systematics, and conservation*, ed. ES Vrba, GB Schaller, pp. 189–202. New Haven: Yale University Press
- Emlen ST, Oring LW. 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science* 197:215–23
- García Pereira RJ, Barbanti Duarte JM, Negrão JA. 2006. Effects of environmental conditions, human activity, reproduction, antler cycle and grouping on fecal glucocorticoids of free-ranging Pampas deer stags (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). *Hormones and Behavior* 49:114–22
- Gassett J, Wiesler D, Baker A, Osborn D, Miller K, *et al.* 1996. Volatile compounds from interdigital gland of male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Journal of Chemical Ecology* 22:1689–96
- Gerber LR. 2006. Including behavioral data in demographic models improves estimates of population viability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4:419–27
- González S. 1997. Estudio de la variabilidad morfológica, genética y molecular de poblaciones relictuales de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) y sus consecuencias para la conservación. Ph.D. dissertation, Universidad de la República Oriental del Uruguay
- González S, Cosse M, Góss Braga F, Vila AR, Merino ML, *et al.* 2010. Pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus 1758). In *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*, ed. JMB Duarte, S Gonzalez, pp. 119–32. Jaboticabal: Funep/IUCN
- González S, Duarte JMB. 2003. Emergency Pampas deer capture in Uruguay. *Deer Specialist Group News* 18:16–7

- Hofmann RR. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78:443–57
- Holsinger KE. 2000. Demography and extinction in small populations. In *Genetics, demography, and viability of fragmented populations*, ed. AG Young, GM Clarke, pp. 55–74. Cambridge, U.K.; New York: Cambridge University Press
- Jackson JE, Giulietti J. 1988. The food habits of Pampas deer *Ozotoceros bezoarticus celer* in relation to its conservation in a relict natural grassland in Argentina. *Biological Conservation* 45:1–10
- Jackson JE, Langguth A. 1987. Ecology and status of the Pampas Deer in the Argentinian Pampas and Uruguay. In *Biology and management of the Cervidae*, ed. C Wemmer, pp. 402–9. Washington, DC: Smithsonian Institute
- Jarman PJ. 1974. The Social Organisation of Antelope in Relation to Their Ecology. *Behaviour* 48:215–67
- Johansson BG, Jones TM. 2007. The role of chemical communication in mate choice. *Biological Reviews* 82:265–89
- Kirkman TW. 1996. *Statistists to Use*  
[http://www.physics.csbsju.edu/stats/exact\\_NROW\\_NCOLUMN\\_form.html](http://www.physics.csbsju.edu/stats/exact_NROW_NCOLUMN_form.html)  
 (02–13–2010)
- Krause J, Ruxton GD. 2002. *Living in groups*. Oxford: Oxford university press. 210 pp.
- Kruuk LE, Clutton–Brock TH, Albon SD, Pemberton JM, Guinness FE. 1999. Population density affects sex ratio variation in red deer. *Nature* 399:459–61
- Kurt F. 1978. Socio–ecological organization and aspects of management in South Asian deer. In *Threatened deer: proceedings of a working meeting of the Deer Specialist Group of the Survival Service Commission on the IUCN Threatened Deer Programme and a dossier on the planning of restoration programmes for threatened mammals with special reference to deer, held at Longview, Washington State, U.S.A., 26 September–1 October, 1977*, ed. International Union for Conservation of Nature Natural Resources. Survival Service

- Commission. Deer Specialist Group pp. 219–39. Morges, Switzerland: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
- Lacerda ACR. 2008. *Ecología e estrutura social do veado-campeiro (Ozotoceros bezoarticus) no Pantanal*. Ph.D. dissertation. Universidade de Brasília Brasília. 194 pp.
- Langguth A, Jackson J. 1980. Cutaneous scent glands in pampas deer—*Blastoceros bezoarticus* (L., 1758). *Zeitschrift für Säugetierkunde* 45:82–90
- Merino ML, Beccaceci M. 1999. *Ozotoceros bezoarticus* (Artiodactyla, Cervidae) en Corrientes, Argentina: Distribución, población y conservación *Iheringia. Série Zoologia* 87:87–92
- Loison A, Festa-Bianchet M, Gaillard J–M, Jorgenson JT, Jullien J–M. 1999. Age-specific survival in five populations of ungulates: evidence of senescence. *Ecology* 80:2539–54
- MacArthur RH, Wilson EO. 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton, N.J.: Princeton University Press. 203 pp.
- McCullough DR. 1978. Components of study programmes: Essential data required on population structure and dynamics in field studies of threatened herbivores. In *Threatened deer : proceedings of a working meeting of the Deer Specialist Group of the Survival Service Commission on the IUCN Threatened Deer Programme and a dossier on the planning of restoration programmes for threatened mammals with special reference to deer, held at Longview, Washington State, U.S.A., 26 September–1 October, 1977*, ed. International Union for Conservation of Nature, Natural Resources. Survival Service Commission. Deer Specialist Group, pp. 302–17. Morges, Switzerland: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
- Michelena P, Bouquet PM, Dissac A, Fourcassie V, Lauga J, *et al.* 2004. An experimental test of hypotheses explaining social segregation in dimorphic ungulates. *Animal Behaviour* 68:1371–80
- Milton JS, Tsokos JO. 1987. *Estadística para Biología y Ciencias de la Salud*. Madrid: Emalsa. 527 pp.

- Moore D. 2001. *Aspects of the behavior, ecology and conservation of the Pampas Deer*. Ph.D. dissertation. State University of New York Syracuse, New York. 282 pp.
- Mourão G, Coutinho M, Mauro R, Campos Z, Tomás W, Magnusson W. 2000. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal Wetland of Brazil. *Biological Conservation* 92:175–83
- Netto NT, Coutinho-Netto CRM, Costa MJRP, Bon R. 2000. Grouping patterns of Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Emas National Park Brazil. *Revista de Etologia* 2:85–94
- Pays O, Benhamou S, Helder R, Gerard J-F. 2007. The dynamics of group formation in large mammalian herbivores: an analysis in the European roe deer. *Animal Behaviour* 74:1429–41
- Pereira RJG, Duarte JMB, Negrão JA. 2005. Seasonal changes in fecal testosterone concentrations and their relationship to the reproductive behavior, antler cycle and grouping patterns in free-ranging male Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). *Theriogenology* 63:2113–25
- Pérez-Barbería FJ, Yearsley JM. 2010. Sexual selection for fighting skills as a driver of sexual segregation in polygynous ungulates: an evolutionary model. *Animal Behaviour* 80:745–55
- Pérez Carusi LC, Beade MS, Miñarro F, Vila AR, Giménez-Dixon M, Bilenca DN. 2009. Relaciones espaciales y numéricas entre venados de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus celer*) y chanchos cimarrones (*Sus scrofa*) en el Refugio de Vida Silvestre Bahía Samborombón, Argentina. *Ecología austral* 19:63–71
- Perrin N, Mazalov V. 1999. Dispersal and Inbreeding Avoidance. *The American Naturalist* 154:282–92
- Pianka ER. 1970. On r- and K-Selection. *American Naturalist* 104:592–7
- Pinder L. 1997. Niche overlap among Brown Brocket Deer, Pampas Deer, and cattle in the Pantanal of Brazil
- Primack RB. 2000. *A primer of conservation biology*. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates
- Putman R. 1988. *The natural history of deer*. Ithaca, N.Y.: Comstock Pub. Associates. 191 pp.

- R Development Core Team. 2009. R: A language and environment for statistical computing. p. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria
- Redford K. 1987. The pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in central Brazil. In *Biology and management of the Cervidae*, ed. C Wemmer. Washington, DC: Smithsonian Institute
- Rodrigues FHG, Monteiro-Filho ELA. 1999. Feeding behaviour of the pampas deer: a grazer or a browser? *Deer Specialist Group News* 15
- Ruckstuhl KE. 2007. Sexual segregation in vertebrates: proximate and ultimate causes. *Integrative and Comparative Biology* 47:245-57
- Ruckstuhl KE, Neuhaus P. 2000. Sexual segregation in ungulates: a new approach. In *Behaviour*, pp. 361-77: VSP International Science Publishers
- Schaller GB, Duplaix-Hall N. 1975. Notes on the large mammals of the Parque Nacional das Emas, Brazil. *Proc.* nº 004370/75
- Shaffer ML. 1981. Minimum Population Sizes for Species Conservation. *BioScience* 31:131-4
- Soulé ME. 1987. *Viable populations for conservation*. New York: Cambridge University Press. 189 pp.
- Sutherland WJ. 1998. The importance of behavioural studies in conservation biology. *Animal Behaviour* 56:801-9
- Ungerfeld R, Gonzalez-Pensado S, Villagran M, Olazabal D, Bielli A, Perez W. 2008. Reproductive biology of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*): A review. *Acta Veterinaria Scandinavica* 50:16
- Van Dyke F. 2003. *Conservation biology: foundations, concepts, applications*. Boston: McGraw-Hill
- Vila AR, Beade MS, Barrios Lamunière D. 2008. Home range and habitat selection of pampas deer. *Journal of Zoology* 276:95-102
- Zar JH. 1999. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall. 929 pp.

## 2.7 Apéndices

**Apéndice 2.1:** Datos obtenidos en los censos realizados. Se registra la fecha, estación (1: verano; 2: otoño; 3: invierno; 4: primavera), se detalla la proporción de individuos para cada categoría de sexo y edad; proporción de individuos en los diferentes tipos de grupos.

| Censo |     |     |          | Proporción de individuos |        |        |         |           |       | Solitarios |        |         |         | Grupos |         |        |             |
|-------|-----|-----|----------|--------------------------|--------|--------|---------|-----------|-------|------------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|-------------|
| Año   | Mes | Día | Estación | N                        | Indet. | Machos | Hembras | Juveniles | Crias | Indet.     | Machos | Hembras | Parejas | Machos | Hembras | Mixtos | Sin clasif. |
| 1996  | 4   | 1   | 2        | 223                      | 0,417  | 0,202  | 0,269   | 0,108     | 0,004 | 0,000      | 0,009  | 0,013   | 0,018   | 0,000  | 0,022   | 0,646  | 0,291       |
| 1996  | 7   | 1   | 3        | 288                      | 0,257  | 0,264  | 0,410   | 0,063     | 0,007 | 0,042      | 0,063  | 0,066   | 0,069   | 0,024  | 0,042   | 0,486  | 0,208       |
| 1996  | 8   | 1   | 3        | 351                      | 0,732  | 0,097  | 0,080   | 0,085     | 0,006 | 0,006      | 0,009  | 0,014   | 0,011   | 0,000  | 0,000   | 0,120  | 0,840       |
| 1997  | 1   | 1   | 1        | 85                       | 0,212  | 0,306  | 0,329   | 0,153     | 0,000 | 0,012      | 0,059  | 0,035   | 0,071   | 0,047  | 0,082   | 0,518  | 0,176       |
| 1997  | 7   | 1   | 2        | 261                      | 0,586  | 0,138  | 0,215   | 0,061     | 0,000 | 0,000      | 0,004  | 0,015   | 0,008   | 0,008  | 0,023   | 0,368  | 0,575       |
| 1997  | 10  | 1   | 4        | 55                       | 0,309  | 0,291  | 0,364   | 0,018     | 0,018 | 0,055      | 0,018  | 0,036   | 0,036   | 0,200  | 0,055   | 0,145  | 0,455       |
| 1997  | 11  | 1   | 4        | 122                      | 0,172  | 0,246  | 0,434   | 0,123     | 0,025 | 0,008      | 0,016  | 0,082   | 0,016   | 0,033  | 0,066   | 0,369  | 0,410       |
| 1998  | 1   | 1   | 1        | 54                       | 0,333  | 0,333  | 0,241   | 0,037     | 0,056 | 0,056      | 0,074  | 0,000   | 0,000   | 0,074  | 0,037   | 0,259  | 0,500       |
| 1998  | 4   | 1   | 2        | 108                      | 0,907  | 0,056  | 0,028   | 0,009     | 0,000 | 0,019      | 0,009  | 0,000   | 0,000   | 0,000  | 0,000   | 0,065  | 0,907       |
| 1998  | 5   | 1   | 2        | 85                       | 0,294  | 0,165  | 0,459   | 0,071     | 0,012 | 0,000      | 0,024  | 0,035   | 0,071   | 0,000  | 0,153   | 0,365  | 0,353       |
| 1998  | 7   | 1   | 2        | 104                      | 0,750  | 0,106  | 0,106   | 0,038     | 0,000 | 0,048      | 0,010  | 0,019   | 0,019   | 0,000  | 0,000   | 0,500  | 0,404       |
| 1999  | 1   | 1   | 1        | 97                       | 0,278  | 0,289  | 0,412   | 0,010     | 0,010 | 0,021      | 0,052  | 0,031   | 0,021   | 0,103  | 0,134   | 0,320  | 0,320       |
| 1999  | 3   | 1   | 1        | 132                      | 0,008  | 0,258  | 0,530   | 0,174     | 0,030 | 0,000      | 0,030  | 0,114   | 0,167   | 0,000  | 0,083   | 0,303  | 0,303       |
| 2002  | 9   | 27  | 4        | 99                       | 0,525  | 0,374  | 0,101   | 0,000     | 0,000 | 0,192      | 0,192  | 0,040   | 0,081   | 0,101  | 0,020   | 0,000  | 0,374       |
| 2002  | 11  | 8   | 4        | 167                      | 0,120  | 0,305  | 0,497   | 0,066     | 0,012 | 0,066      | 0,132  | 0,168   | 0,084   | 0,012  | 0,084   | 0,287  | 0,168       |
| 2002  | 12  | 7   | 4        | 201                      | 0,030  | 0,368  | 0,527   | 0,070     | 0,005 | 0,010      | 0,095  | 0,139   | 0,050   | 0,050  | 0,104   | 0,443  | 0,109       |
| 2003  | 1   | 3   | 1        | 241                      | 0,270  | 0,249  | 0,373   | 0,095     | 0,012 | 0,058      | 0,120  | 0,154   | 0,041   | 0,012  | 0,025   | 0,216  | 0,373       |
| 2003  | 3   | 18  | 1        | 66                       | 0,303  | 0,182  | 0,364   | 0,152     | 0,000 | 0,030      | 0,045  | 0,030   | 0,030   | 0,000  | 0,030   | 0,455  | 0,379       |
| 2003  | 4   | 10  | 2        | 199                      | 0,377  | 0,161  | 0,327   | 0,136     | 0,000 | 0,020      | 0,010  | 0,060   | 0,070   | 0,025  | 0,045   | 0,211  | 0,558       |
| 2003  | 5   | 9   | 2        | 207                      | 0,140  | 0,261  | 0,502   | 0,082     | 0,014 | 0,034      | 0,111  | 0,203   | 0,068   | 0,029  | 0,082   | 0,237  | 0,237       |
| 2003  | 7   | 24  | 3        | 120                      | 0,408  | 0,167  | 0,392   | 0,033     | 0,000 | 0,058      | 0,108  | 0,142   | 0,033   | 0,000  | 0,100   | 0,050  | 0,508       |
| 2003  | 8   | 21  | 3        | 111                      | 0,333  | 0,144  | 0,468   | 0,054     | 0,000 | 0,090      | 0,027  | 0,099   | 0,036   | 0,018  | 0,072   | 0,297  | 0,360       |
| 2003  | 9   | 11  | 3        | 245                      | 0,396  | 0,204  | 0,363   | 0,037     | 0,000 | 0,098      | 0,086  | 0,135   | 0,033   | 0,049  | 0,045   | 0,110  | 0,445       |
| 2003  | 10  | 15  | 4        | 207                      | 0,251  | 0,353  | 0,391   | 0,005     | 0,000 | 0,043      | 0,121  | 0,145   | 0,058   | 0,077  | 0,101   | 0,242  | 0,213       |
| 2003  | 11  | 14  | 4        | 189                      | 0,206  | 0,323  | 0,450   | 0,021     | 0,000 | 0,058      | 0,122  | 0,180   | 0,063   | 0,074  | 0,127   | 0,206  | 0,169       |
| 2004  | 1   | 15  | 1        | 144                      | 0,139  | 0,222  | 0,528   | 0,111     | 0,000 | 0,007      | 0,083  | 0,174   | 0,056   | 0,028  | 0,111   | 0,222  | 0,319       |

| Censo |     |     |          | Proporción de individuos |        |        |         |           |       | Solitarios |        |         | Grupos  |        |         |        |             |
|-------|-----|-----|----------|--------------------------|--------|--------|---------|-----------|-------|------------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|-------------|
| Año   | Mes | Día | Estación | N                        | Indet. | Machos | Hembras | Juveniles | Crías | Indet.     | Machos | Hembras | Parejas | Machos | Hembras | Mixtos | Sin clasif. |
| 2004  | 3   | 30  | 2        | 217                      | 0,106  | 0,327  | 0,535   | 0,028     | 0,005 | 0,032      | 0,143  | 0,327   | 0,101   | 0,041  | 0,065   | 0,194  | 0,097       |
| 2004  | 5   | 20  | 2        | 254                      | 0,185  | 0,287  | 0,457   | 0,067     | 0,004 | 0,020      | 0,122  | 0,197   | 0,071   | 0,028  | 0,059   | 0,236  | 0,268       |
| 2004  | 7   | 28  | 3        | 218                      | 0,404  | 0,128  | 0,440   | 0,018     | 0,009 | 0,032      | 0,032  | 0,073   | 0,009   | 0,028  | 0,138   | 0,211  | 0,477       |
| 2004  | 9   | 27  | 4        | 274                      | 0,124  | 0,296  | 0,526   | 0,055     | 0,000 | 0,044      | 0,106  | 0,142   | 0,073   | 0,062  | 0,113   | 0,252  | 0,208       |

**Apéndice 2.2:** Densidad de venados por potrero y valor medio del tamaño de grupo encontrado. Se registra la fecha, estación (1: verano; 2: otoño; 3: invierno; 4: primavera).

| Censo | AÑO  | MES | DIA | Estación | Nombre               | Densidad | Media De Grupo |
|-------|------|-----|-----|----------|----------------------|----------|----------------|
| 1     | 1998 | 5   | 1   | 2        | Maciegal             | 0,06     | 3,8            |
| 1     | 1998 | 5   | 1   | 2        | Manguera De Yegua    | 0,042    | 7,5            |
| 1     | 1998 | 5   | 1   | 2        | Sauce Caído          | 0,069    | 3              |
| 2     | 1998 | 7   | 1   | 3        | Maciegal             | 0,019    | 3              |
| 2     | 1998 | 7   | 1   | 3        | Manguera De Yegua    | 0,014    | 1,667          |
| 2     | 1998 | 7   | 1   | 3        | Sauce Caído III      | 0,026    | 4              |
| 2     | 1998 | 7   | 1   | 3        | Sauce Caído I Y II   | 0,195    | 4,722          |
| 3     | 1998 | 9   | 1   | 3        | Los Venados          | 0,103    | 8,5            |
| 4     | 1999 | 1   | 1   | 1        | Los Venados          | 0,015    | 2,5            |
| 4     | 1999 | 1   | 1   | 1        | Sauce Caído I        | 0,037    | 2,5            |
| 4     | 1999 | 1   | 1   | 1        | Sauce Caído II Y III | 0,075    | 4,375          |
| 5     | 1999 | 1   | 2   | 1        | Los Venados          | 0,142    | 2,938          |
| 6     | 1999 | 3   | 1   | 1        | Maciegal             | 0,153    | 2,4            |
| 6     | 1999 | 3   | 1   | 1        | Los Venados          | 0,045    | 3              |
| 6     | 1999 | 3   | 1   | 1        | Sauce Caído I        | 0,093    | 1,667          |
| 6     | 1999 | 3   | 1   | 1        | Sauce Caído II       | 0,03     | 2,5            |
| 7     | 2002 | 9   | 27  | 4        | Maciegal             | 0,086    | 1,35           |
| 7     | 2002 | 9   | 27  | 4        | Semillero            | 0,171    | 1,2            |
| 7     | 2002 | 9   | 27  | 4        | Sauce Caído I        | 0,205    | 1,667          |
| 7     | 2002 | 9   | 27  | 4        | Sauce Caído II       | 0,066    | 1,222          |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Maciegal             | 0,21     | 1,737          |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Manguera De Yegua    | 0,025    | 1,5            |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Sauce Caído          | 0,021    | 2              |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Semillero            | 0,028    | 1              |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Sauce Caído I        | 0,115    | 1,476          |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Sauce Caído II       | 0,198    | 1,5            |
| 8     | 2002 | 11  | 8   | 4        | Sauce Caído III      | 0,036    | 3,667          |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Maciegal             | 0,274    | 1,830          |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Los Venados          | 0,109    | 2,571          |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Manguera De Yegua    | 0,036    | 3,25           |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Sauce Caído I        | 0,119    | 1,882          |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Sauce Caído II       | 0,078    | 2,167          |
| 9     | 2002 | 12  | 7   | 4        | Sauce Caído III      | 0,07     | 2,1            |
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Maciegal             | 0,274    | 1,365          |
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Los Venados          | 0,057    | 1,357          |

| Censo | AÑO  | MES | DIA | Estación | Nombre            | Densidad | Media De Grupo |
|-------|------|-----|-----|----------|-------------------|----------|----------------|
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Semillero         | 0,028    | 1              |
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Sauce Caído I     | 0,052    | 1,4            |
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Sauce Caído II    | 0,048    | 2,667          |
| 10    | 2003 | 1   | 3   | 1        | Sauce Caído III   | 0,033    | 1,667          |
| 11    | 2003 | 1   | 30  | 1        | Maciegal          | 0,07     | 1,833          |
| 11    | 2003 | 1   | 30  | 1        | Los Venados       | 0,009    | 3              |
| 11    | 2003 | 1   | 30  | 1        | Sauce Caído       | 0,036    | 1,8            |
| 12    | 2003 | 1   | 31  | 1        | Maciegal          | 0,067    | 4,2            |
| 12    | 2003 | 1   | 31  | 1        | Sauce Caído III   | 0,016    | 5              |
| 13    | 2003 | 3   | 18  | 1        | Maciegal          | 0,009    | 1,5            |
| 13    | 2003 | 3   | 18  | 1        | Los Venados       | 0,109    | 3,6            |
| 13    | 2003 | 3   | 18  | 1        | Manguera De Yegua | 0,008    | 3              |
| 13    | 2003 | 3   | 18  | 1        | Semillero         | 0,057    | 2              |
| 13    | 2003 | 3   | 18  | 1        | Sauce Caído III   | 0,013    | 2              |
| 14    | 2003 | 3   | 19  | 1        | Sauce Caído II    | 0,012    | 2              |
| 14    | 2003 | 3   | 19  | 1        | Sauce Caído III   | 0,046    | 2,8            |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Maciegal          | 0,255    | 2,963          |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Los Venados       | 0,215    | 3,381          |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Manguera De Yegua | 0,045    | 1,455          |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Sauce Caído I     | 0,029    | 2              |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Sauce Caído II    | 0,102    | 8,5            |
| 15    | 2003 | 4   | 10  | 2        | Sauce Caído III   | 0,006    | 2              |
| 16    | 2003 | 4   | 11  | 2        | Los Venados       | 0,015    | 5              |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Maciegal          | 0,239    | 1,974          |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Los Venados       | 0,191    | 1,465          |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Manguera De Yegua | 0,088    | 1,938          |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Sauce Caído I     | 0,019    | 1,25           |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Sauce Caído II    | 0,084    | 2,333          |
| 17    | 2003 | 5   | 9   | 2        | Sauce Caído III   | 0,06     | 2              |
| 18    | 2003 | 7   | 24  | 3        | Maciegal          | 0,099    | 2,214          |
| 18    | 2003 | 7   | 24  | 3        | Manguera De Yegua | 0,045    | 1,778          |
| 18    | 2003 | 7   | 24  | 3        | Sauce Caído I     | 0,167    | 2,647          |
| 18    | 2003 | 7   | 24  | 3        | Sauce Caído II    | 0,162    | 1,227          |
| 19    | 2003 | 8   | 21  | 3        | Maciegal          | 0,012    | 2              |
| 19    | 2003 | 8   | 21  | 3        | Los Venados       | 0,006    | 2              |
| 19    | 2003 | 8   | 21  | 3        | Sauce Caído I     | 0,07     | 1,727          |
| 19    | 2003 | 8   | 21  | 3        | Sauce Caído II    | 0,409    | 2,345          |
| 20    | 2003 | 9   | 11  | 4        | Maciegal          | 0,146    | 1,533          |

| Censo | AÑO  | MES | DIA | Estación | Nombre            | Densidad | Media De Grupo |
|-------|------|-----|-----|----------|-------------------|----------|----------------|
| 20    | 2003 | 9   | 11  | 4        | Los Venados       | 0,215    | 1,919          |
| 20    | 2003 | 9   | 11  | 4        | Manguera De Yegua | 0,019    | 1,4            |
| 20    | 2003 | 9   | 11  | 4        | Sauce Caído I     | 0,208    | 1,474          |
| 20    | 2003 | 9   | 11  | 4        | Sauce Caído II    | 0,391    | 2,826          |
| 21    | 2003 | 10  | 15  | 4        | Maciegal          | 0,175    | 2,115          |
| 21    | 2003 | 10  | 15  | 4        | Los Venados       | 0,115    | 1,810          |
| 21    | 2003 | 10  | 15  | 4        | Sauce Caído       | 0,058    | 1,654          |
| 21    | 2003 | 10  | 15  | 4        | Sauce Caído I     | 0,156    | 1,826          |
| 21    | 2003 | 10  | 15  | 4        | Sauce Caído II    | 0,084    | 7              |
| 22    | 2003 | 11  | 14  | 4        | Maciegal          | 0,108    | 1,619          |
| 22    | 2003 | 11  | 14  | 4        | Los Venados       | 0,161    | 1,656          |
| 22    | 2003 | 11  | 14  | 4        | Sauce Caído       | 0,058    | 1,654          |
| 22    | 2003 | 11  | 14  | 4        | Sauce Caído I     | 0,152    | 1,864          |
| 22    | 2003 | 11  | 14  | 4        | Sauce Caído II    | 0,084    | 7              |
| 23    | 2004 | 1   | 15  | 1        | Maciegal          | 0,086    | 2,455          |
| 23    | 2004 | 1   | 15  | 1        | Los Venados       | 0,224    | 1,721          |
| 23    | 2004 | 1   | 15  | 1        | Sauce Caído II    | 0,042    | 1,75           |
| 23    | 2004 | 1   | 15  | 1        | Sauce Caído III   | 0,013    | 1,333          |
| 24    | 2004 | 1   | 16  | 1        | Semillero         | 0,542    | 2,714          |
| 25    | 2004 | 3   | 30  | 2        | Maciegal          | 0,217    | 1,478          |
| 25    | 2004 | 3   | 30  | 2        | Los Venados       | 0,306    | 1,423          |
| 25    | 2004 | 3   | 30  | 2        | Sauce Caído       | 0,01     | 2              |
| 25    | 2004 | 3   | 30  | 2        | Sauce Caído II    | 0,114    | 2,375          |
| 25    | 2004 | 3   | 30  | 2        | Sauce Caído III   | 0,07     | 1,235          |
| 26    | 2004 | 5   | 20  | 2        | Maciegal          | 0,162    | 1,7            |
| 26    | 2004 | 5   | 20  | 2        | Los Venados       | 0,167    | 1,618          |
| 26    | 2004 | 5   | 20  | 2        | Sauce Caído I     | 0,048    | 1,444          |
| 26    | 2004 | 5   | 20  | 2        | Sauce Caído II    | 0,361    | 1,622          |
| 26    | 2004 | 5   | 20  | 2        | Sauce Caído III   | 0,056    | 1,214          |
| 27    | 2004 | 7   | 28  | 3        | Maciegal          | 0,095    | 3,75           |
| 27    | 2004 | 7   | 28  | 3        | Los Venados       | 0,303    | 5,263          |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Maciegal          | 0,118    | 2,176          |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Los Venados       | 0,182    | 2,222          |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Manguera De Yegua | 0,119    | 1,556          |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Sauce Caído I     | 0,111    | 1,304          |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Sauce Caído II    | 0,198    | 2,2            |
| 28    | 2004 | 9   | 27  | 4        | Sauce Caído III   | 0,04     | 3              |

**Apéndice 2.3:** Tamaño de Grupo Típico (TGT) de hembras (TGT-HEMBRAS), machos (TGT-MACHOS) y grupos mixtos (TGT-MIX). Se detalla el número de grupos incluidos para cada mes (N), el valor medio (media), mínimo, máximo, varianza y desvío estándar.

| TGT-HEMBRAS | N Válido | Media | Mínimo | Máximo | Varianza | Desvío estándar |
|-------------|----------|-------|--------|--------|----------|-----------------|
| Enero       | 10       | 2,1   | 1,4    | 3,33   | 0,53     | 0,73            |
| Marzo       | 4        | 1,82  | 1,24   | 2,09   | 0,15     | 0,39            |
| Abril       | 2        | 2,37  | 2,33   | 2,4    | 0        | 0,05            |
| Mayo        | 3        | 2,28  | 1,45   | 3,33   | 0,93     | 0,96            |
| Julio       | 8        | 2     | 1      | 3,12   | 0,47     | 0,69            |
| Agosto      | 3        | 1,36  | 1      | 1,6    | 0,1      | 0,32            |
| Septiembre  | 4        | 1,65  | 1,25   | 2,52   | 0,35     | 0,59            |
| Octubre     | 2        | 3,31  | 1,63   | 5      | 5,69     | 2,38            |
| Noviembre   | 5        | 2,73  | 1,5    | 6,6    | 4,7      | 2,17            |
| TGT-MACHOS  | N Válido | Media | Mínimo | Máximo | Varianza | Desvío estándar |
| Enero       | 10       | 1,85  | 1      | 5,67   | 1,9      | 1,38            |
| Marzo       | 4        | 1,08  | 1      | 1,3    | 0,02     | 0,15            |
| Abril       | 3        | 1,95  | 1      | 3,86   | 2,72     | 1,65            |
| Mayo        | 3        | 1,25  | 1      | 1,48   | 0,06     | 0,24            |
| Julio       | 8        | 1,76  | 1      | 3,4    | 0,65     | 0,81            |
| Agosto      | 3        | 1,13  | 1      | 1,4    | 0,05     | 0,23            |
| Septiembre  | 4        | 1,55  | 1,34   | 1,67   | 0,02     | 0,14            |
| Octubre     | 2        | 2,58  | 2,32   | 2,83   | 0,13     | 0,37            |
| Noviembre   | 4        | 1,55  | 1      | 2,41   | 0,4      | 0,64            |
| TGT-MIXTO   | N Válido | Media | Mínimo | Máximo | Varianza | Desvío estándar |
| Enero       | 10       | 5,19  | 3,43   | 6,48   | 1,32     | 1,15            |
| Marzo       | 4        | 4,99  | 3,46   | 8,16   | 4,81     | 2,19            |
| Abril       | 3        | 7,44  | 3,57   | 14,27  | 35,24    | 5,94            |
| Mayo        | 3        | 5,23  | 3,83   | 7,86   | 5,21     | 2,28            |
| Julio       | 8        | 22,55 | 4,4    | 53,52  | 445,66   | 21,11           |
| Agosto      | 3        | 22,1  | 5,65   | 39,48  | 286,85   | 16,94           |
| Septiembre  | 4        | 5,63  | 2      | 10,48  | 12,53    | 3,54            |
| Octubre     | 2        | 4,72  | 3,6    | 5,84   | 2,51     | 1,58            |
| Noviembre   | 5        | 4,37  | 3,35   | 5      | 0,46     | 0,68            |

**Apéndice 2.4:** Test de contingencia  $r \times c$  para determinar la significación estadística en el tipo de grupo que componen los venados en función del sexo.

| Datos de la tabla de contingencia |         |        |       |
|-----------------------------------|---------|--------|-------|
| Grupos                            | Hembras | Machos | Total |
| Solitarios                        | 640     | 361    | 1001  |
| Mixtos                            | 778     | 598    | 1376  |
| Un sexo                           | 420     | 173    | 593   |
| Total                             | 1838    | 1132   | 2970  |
| Tabla de contingencia esperada    |         |        |       |
| Grupos                            | Hembras | Machos |       |
| Solitarios                        | 619     | 382    |       |
| Mixtos                            | 852     | 524    |       |
| Un sexo                           | 367     | 226    |       |
| $\chi^2$                          | 38,5    |        |       |
| GL                                | 2       |        |       |
| p <                               | 0,000   |        |       |

**Apéndice 2.5:** Resultados del análisis de segregación-agregación sexual (SSAS). Se detalla el número de individuos analizados (N); número de grupos analizados (k); el valor de SSAS observado y los límites de confianza. Cuando el valor SSAS observado se encuentra por debajo del límite inferior nos indica un proceso de agregación entre machos y hembras, mientras que cuando se encuentra por encima nos marca un proceso de segregación sexual. En rojo se destacan los valores que indican asociación no al azar de machos y hembras.

| Mes       | N   | k   | [SSAS <sub>obs</sub> ] | Límite de confianza inferior | Límite de confianza superior |
|-----------|-----|-----|------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Enero     | 408 | 240 | 0,621                  | 0,536                        | 0,637                        |
| Marzo     | 324 | 216 | 0,585                  | 0,610                        | 0,721                        |
| Abril     | 211 | 87  | 0,373                  | 0,348                        | 0,499                        |
| Mayo      | 400 | 252 | 0,627                  | 0,581                        | 0,685                        |
| Julio     | 499 | 221 | 0,526                  | 0,397                        | 0,494                        |
| Agosto    | 130 | 68  | 0,595                  | 0,438                        | 0,624                        |
| Setiembre | 411 | 247 | 0,720                  | 0,556                        | 0,651                        |
| Octubre   | 190 | 101 | 0,662                  | 0,466                        | 0,610                        |
| Noviembre | 363 | 210 | 0,622                  | 0,528                        | 0,636                        |
| Diciembre | 180 | 93  | 0,547                  | 0,436                        | 0,591                        |

**Apéndice 2.6:** Datos utilizados para el análisis de independencia test exacto de Fisher, para determinar la significación estadística de la segregación espacial entre machos y hembras. Se consideraron solamente los períodos donde se detectó segregación entre los sexos.

| Censo 16, julio de 1998               |         |        |               |      |
|---------------------------------------|---------|--------|---------------|------|
| Datos: tabla de contingencia          |         |        |               |      |
|                                       | Hembras | Machos | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 0       | 0      | 3             | 3    |
| Manguera de Yegua                     | 1       | 0      | 3             | 4    |
| Sauce Caído                           | 5       | 4      | 48            | 57   |
| Suma                                  | 6       | 4      | 54            | 64   |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |        |               |      |
|                                       | Hembras | Machos | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 0,281   | 0,188  | 2,53          |      |
| Manguera de Yegua                     | 0,375   | 0,250  | 3,38          |      |
| Sauce Caído                           | 5,34    | 3,56   | 48,1          |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         |        | 0,1           |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         |        | $p = 0,715$   |      |
| Censo 21, setiembre de 2002           |         |        |               |      |
| Datos: tabla de contingencia          |         |        |               |      |
|                                       | Hembras | Machos | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 0       | 4      | 0             | 4    |
| Maciegal                              | 0       | 14     | 0             | 14   |
| Sauce Caído                           | 6       | 8      | 8             | 22   |
| Semillero                             | 0       | 3      | 0             | 3    |
|                                       |         |        |               |      |
| Suma                                  | 6       | 29     | 8             | 43   |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |        |               |      |
|                                       | Hembras | Machos | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 0,558   | 2,70   | 0,744         |      |
| Maciegal                              | 1,95    | 9,44   | 2,60          |      |
| Sauce Caído                           | 3,07    | 14,8   | 4,09          |      |
| Semillero                             | 0,419   | 2,02   | 0,558         |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         |        | 4,1E-06       |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         |        | $p = 0,002$   |      |
| Censo 32, julio de 2003               |         |        |               |      |
| Datos: tabla de contingencia          |         |        |               |      |
|                                       | Hembras | Machos | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 0       | 0      | 6             | 6    |
| Maciegal                              | 3       | 2      | 2             | 7    |

|                                       |         |           |               |      |
|---------------------------------------|---------|-----------|---------------|------|
| Manguera de Yegua                     | 4       | 1         | 0             | 5    |
| Sauce Caído                           | 25      | 10        | 2             | 37   |
| Suma                                  | 32      | 13        | 10            | 55   |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 3,49    | 1,42      | 1,09          |      |
| Maciegal                              | 4,07    | 1,65      | 1,27          |      |
| Manguera de Yegua                     | 2,91    | 1,18      | 0,909         |      |
| Sauce Caído                           | 21,5    | 8,75      | 6,73          |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         | 6,0E-08   |               |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         | p = 0.000 |               |      |
| Censo 34, setiembre de 2003           |         |           |               |      |
| Datos: tabla de contingencia          |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 2       | 5         | 2             | 9    |
| Los venados                           | 9       | 7         | 8             | 24   |
| Maciegal                              | 9       | 1         | 0             | 10   |
| Manguera de Yegua                     | 2       | 3         | 0             | 5    |
| Sauce Caído                           | 29      | 17        | 25            | 71   |
| Suma                                  | 51      | 33        | 35            | 119  |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 3,86    | 2,50      | 2,65          |      |
| Los venados                           | 10,3    | 6,66      | 7,06          |      |
| Maciegal                              | 4,29    | 2,77      | 2,94          |      |
| Manguera de Yegua                     | 2,14    | 1,39      | 1,47          |      |
| Sauce Caído                           | 30,4    | 19,7      | 20,9          |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         | 2,8E-08   |               |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         | p = 0,024 |               |      |
| Censo 35, octubre de 2003             |         |           |               |      |
| Datos: tabla de contingencia          |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 5       | 5         | 19            | 29   |
| Los venados                           | 10      | 6         | 9             | 25   |
| Maciegal                              | 0       | 6         | 0             | 6    |
| Sauce Caído                           | 30      | 24        | 25            | 79   |
| Suma                                  | 45      | 41        | 53            | 139  |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 9,39    | 8,55      | 11,1          |      |

|                                       |         |           |               |      |
|---------------------------------------|---------|-----------|---------------|------|
| Los venados                           | 8,09    | 7,37      | 9,53          |      |
| Maciegal                              | 1,94    | 1,77      | 2,29          |      |
| Sauce Caído                           | 25,6    | 23,3      | 30,1          |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         | 5,1E-09   |               |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         | p = 0,001 |               |      |
| Censo 43, setiembre de 2004           |         |           |               |      |
| Datos: tabla de contingencia          |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos | Suma |
| Chorizo                               | 2       | 0         | 8             | 10   |
| Los venados                           | 17      | 9         | 20            | 46   |
| Maciegal                              | 16      | 1         | 2             | 19   |
| Manguera de Yegua                     | 21      | 3         | 3             | 27   |
| Sauce Caído                           | 20      | 18        | 30            | 68   |
| Suma                                  | 76      | 31        | 63            | 170  |
| Tabla esperada: tabla de contingencia |         |           |               |      |
|                                       | Hembras | Machos    | Grupos mixtos |      |
| Chorizo                               | 4,47    | 1,82      | 3,71          |      |
| Los venados                           | 20,6    | 8,39      | 17,0          |      |
| Maciegal                              | 8,49    | 3,46      | 7,04          |      |
| Manguera de Yegua                     | 12,1    | 4,92      | 10,0          |      |
| Sauce Caído                           | 30,4    | 12,4      | 25,2          |      |
| Probabilidad de la tabla dada         |         | 3,5E-14   |               |      |
| Suma de probabilidades de la tabla    |         | p = 0,000 |               |      |

## 3 USO DEL AMBIENTE

---

### 3.1 Antecedentes y justificación

La dispersión es el proceso que determina el flujo génico tanto en el espacio como en el tiempo. En el contexto de la fragmentación del paisaje y el cambio climático global, es muy importante comprender cómo, dónde y por qué los organismos se mueven entre poblaciones locales y hacia nuevas áreas. La dinámica espacial de individuos, poblaciones así como el rango geográfico de ocupación de las especies es de interés para la ecología y la evolución. Pero también es un insumo fundamental para establecer estrategias para la conservación de las especies (Gibbs *et al.* 2010; Struve *et al.* 2010).

La utilización del ambiente por un animal se puede definir en función del concepto de tamaño de ámbito hogar (del inglés *home range*). El mismo fue desarrollado por primera vez por Burt (1943), que lo describió como el área en la cual un animal se desplaza en sus movimientos diarios en busca de alimento. Definiciones más recientes lo describen como la expresión espacial de los comportamientos animales vinculados con la reproducción y supervivencia. El ámbito hogar se compone de diferentes

regiones que son utilizadas por el individuo de manera diferencial. Se pueden establecer zonas núcleo, territorio (región que es defendida para evitar su ocupación por un co-específico, por medio de combates o gestos agresivos) y áreas neutrales (que son compartidas con otros individuos de su especie) (Börger *et al.* 2008; Börger *et al.* 2006; Wingfield 2009).

El análisis del uso del espacio ha sido crítico para identificar sistemas sociales y de apareamiento en mamíferos. Se ha establecido que el grado de solapamiento en los ámbitos hogar de los individuos puede proveer información indirecta sobre las interacciones sociales (Clutton-Brock 1989; Chaverri *et al.* 2007).

El comportamiento que determina el ámbito hogar es un patrón de uso del espacio, que estará definido por la interacción entre comportamiento y ambiente que tiene consecuencias fundamentales para los procesos ecológicos. El tamaño del ámbito hogar se correlaciona tanto con la masa corporal como con aspectos filogenéticos de las especies. Para comprender las determinantes que caracterizan el patrón de utilización del espacio a nivel de especie, población e individuo, es necesario integrar variables como la alimentación (determinada por variaciones predecibles como la estacionalidad) así como la respuesta individual a eventos no predecibles que dependen tanto de los atributos del individuo como a la configuración del ambiente (Börger *et al.* 2006; Wingfield 2009).

El patrón de uso del espacio puede ser abordado a diferentes escalas espacio temporales, que reflejan las respuestas de movimiento de los animales en diferentes etapas de su historia de vida. Por un lado tenemos

el análisis de los movimientos diarios de un animal, permitiendo determinar comportamientos alimenticios, de alerta y desplazamientos cortos, con una escala espacial a nivel de parches y temporal de horas (ámbito diario). También se puede analizar el patrón de desplazamiento y utilización del espacio a lo largo de un año, contemplando las variaciones estacionales de ámbito en el tiempo de vida, en una escala geográfica de paisaje (ámbito hogar). Finalmente el registro de uso del ambiente desde el nacimiento hasta la muerte del animal, incluyendo la fase de dispersión, reproducción y muerte, abarca una región geográfica y es determinada en un seguimiento del animal de varios años (ámbito de vida) (Fryxell *et al.* 2008; Owen-Smith *et al.* 2010).

La comprensión de los procesos ecológicos que determinan una respuesta dada y delinean el modo en que una especie o población utiliza el ambiente, es un aspecto crucial tanto en la elaboración como en la implementación de planes de manejo y conservación (Börger *et al.* 2008; Börger *et al.* 2006; Gordon *et al.* 2004; Wingfield 2009).

### 3.1.1 Estimación del ámbito hogar

La estimación del ámbito hogar de un animal se logra a partir de un conjunto de puntos de localización que han sido colectados por un periodo de tiempo, generándose así una nube de puntos. Las primeras estimaciones de ámbito hogar fueron de Mohr (1947) donde define el término “mínimo polígono convexo” (MPC), el cual surge de la conexión de los puntos de localización externos, delimitando un área máxima de uso. Sin embargo, este parámetro es en general una sobre-estimación de la utilización real de

ambiente por parte del animal. Por esta razón, se han desarrollado otros modelos más sofisticados para la estimación del área de utilización del ambiente. Éstos toman en consideración los errores de muestreo sobre los movimientos de un animal, y distribución no uniforme del uso del espacio sobre toda el área comprendida en el MPC. Los modelos alternativos comprenden la normal bivariada, media armónica, polígonos pelados, clusters de vecino próximo, y Kernel adaptativo y fijo (Marzluff *et al.* 2001). El estimador de Kernel tiene como cualidad la estimación directa de la densidad y al ser una estimación no paramétrica tiene un buen potencial para estimar con precisión la densidad de cualquier forma (Seaman & Powell 1996).

Existen distintos estudios sobre uso del ambiente y ámbito hogar en venado de campo para poblaciones de Brasil, Argentina y Uruguay (población El Tapado) (Lacerda 2008; Leeuwenberg *et al.* 1997; Moore 2001; Pinder 1997; Rodrigues & Monteiro-Filho 2000; Vila *et al.* 2008).

En esta investigación planteamos la siguiente hipótesis,  $H_0$ : Existen diferencias en el tamaño del ámbito hogar entre los individuos entre categoría de edad, sexo y estacionalidad.

## 3.2 Objetivos

### 3.2.1 Objetivo general:

Establecer el patrón de utilización del ambiente de 10 ejemplares marcados, de venado de campo a partir de datos de seguimiento por dos años.

### 3.2.2 Objetivos específicos:

Analizar la ubicación de cinco machos y cinco hembras de venado de campo de la población Los Ajos.

Estimar el área de utilización del ambiente por parte de los animales marcados.

Examinar la composición de grupo de los animales identificados por visualización directa.

Estudiar el patrón de actividad de los animales y su asociación con variables ambientales.

## 3.3 Material & Métodos

### 3.3.1 Metodología de captura

En octubre de 2002 se capturaron individuos machos y hembras de la población Los Ajos, para evaluación sanitaria.

La técnica de captura se realizó con personal de la estancia (peones) a caballo que dirigieron o arrearon los venados hacia una red fija. Para el

procedimiento se seleccionó un potrero con alta densidad de individuos. La red estaba sostenida por biólogos y veterinarios. El manejo de los animales fue coordinado por el Dr. José Maurício Barbanti Duarte del Departamento de Zootecnia, Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) FCAV/UNESP-Brasil. Los ejemplares fueron anestesiados con una asociación de drogas (citrato de ketamina (5mg/kg), xylazina (1mg/kg) y atropina (0,04mg/kg)). La reversión de la anestesia se realizó utilizando yohimbina. Los animales se trasladaron a un lugar umbrío donde fueron monitoreados, se extrajeron muestras biológicas (sangre y piel)<sup>6</sup>, se hizo biometría y marcación. La determinación de la edad se realizó por observación de la dentadura y desarrollo reproductivo. La manipulación de los animales duró aproximadamente una hora y se llevó un registro (Apéndice 3.1) rde la biometría, estado sanitario y manipulaciones realizadas por el equipo veterinario (González & Duarte 2003).

En esa instancia todos los animales capturados fueron marcados con caravanas; a 10 ejemplares (cinco machos y cinco hembras) se les colocó radio-collares de Wildlife Material Inc. con una longitud de onda de radio de 150-151 Mhz. que incluían sensor de mortalidad y de patrón de actividad. Las características de los animales marcados con radio-trasmisores se detallan en el Apéndice 3.2.

Cada vez que se registraba un animal se tomaron los datos de fecha, hora, temperatura, actividad. La localización de los venados se realizó

---

<sup>6</sup> Con las muestras biológicas se estableció un banco de tejidos (fibroblastos) que se conserva en Genética de la Conservación, IIBCE.

mensualmente por un período de dos años. Para ello se tomaron entre dos y tres azimut (con brújula Recta) desde puntos fijos que fueron geo-referenciados utilizando GPS (GARMIN eTrex H). Para minimizar el error debido a movimientos de los animales en los intervalos entre los registros, el tiempo entre cada toma no fue mayor a 15 minutos. Se incluyeron para cada localización azimuts que diferían entre 60–120° (White & Garrott 1990). Se tomaron tres localizaciones por día e individuo. La ubicación de los animales se realizó por triangulación utilizando el programa LOCATE II (Nams 2000). La precisión de la metodología fue confrontada con los datos obtenidos por observación directa. Cuando un ejemplar con radio-collar se visualizaba en el campo éste era identificado observando el número de la caravana. Su ubicación fue establecida en relación al observador (geo-referenciado con GPS), obteniendo el ángulo al que se encontraba el individuo utilizando brújula y la distancia con un estimador de distancia laser, *rangefinder*, (Bushnell). Cuando se identificaron individuos en el campo se registró el estado reproductivo y la conformación de grupo.

Cada individuo fue mapeado en el área empleando Arcview Gis 3.3 (ESRI, Redlands, CA, USA). El ámbito hogar fue estimado utilizando la extensión de Arcview Animal Movement 2.0 (Hooge & Eichenlaub 2000). Para estimar cada área de ocupación se utilizó tanto el método del Mínimo Polígono Convexo (Mohr 1947) y el método de densidad de Kernel de la densidad de ocurrencias (50 y 95%) (Worton 1989).

Las interacciones entre individuos fue determinado por la estimación de Interacción Animal Estática (S) (White & Garrott 1990) que es la

proporción del ámbito hogar del animal 1 ocupada por parte del animal 2, según:

$$S_{i,j} = \frac{A_{ij}}{A_i} \quad (3.1)$$

$A_{i,2}$  representa el área de solapamiento de los individuos  $i$  y  $j$ ,  $A_i$  y  $A_j$  representan los respectivos ámbitos hogar.

También se estimó el área media de solapamiento (SM) (Chaverri *et al.* 2007) que fue calculado según:

$$SM_{i,j} = \frac{R_{ij}}{R_i + R_j} \times 2 \quad (3.2)$$

Donde  $R_{ij}$  representa el área de solapamiento entre los individuos  $i$  y  $j$ ,  $R_i$  y  $R_j$  representan el área hogar total de  $i$  y  $j$ . Al multiplicar por 2 se obtiene el tamaño medio del solapamiento entre los individuos en cuestión. Para analizar el grado de solapamiento se utilizaron ámbitos hogar generados en tiempos de coincidencia entre animales. Se analizaron los ámbitos hogar generados en los primeros 12 meses de 2003 ( $n=6$ ) y en los meses 13 al 21, año 2004 ( $n=5$ ). Posteriormente se ejecutó un análisis de clúster (ligamiento completo y distancia Euclidiana) sobre las matrices de solapamiento para 2003 y 2004.

Realizamos un test de  $X^2$  sobre la distribución de la actividad registrada en función de la hora y la temperatura.

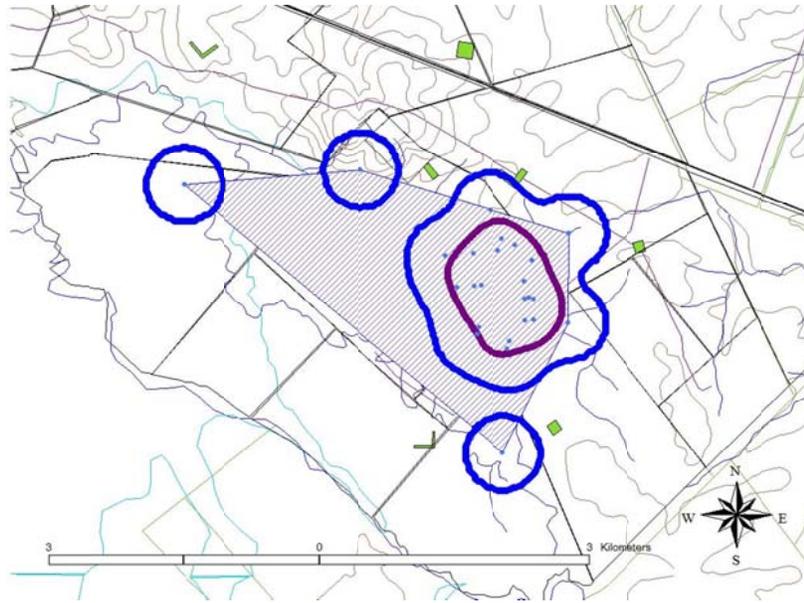
## 3.4 Resultados

### 3.4.1 Localizaciones

Los animales marcados con radiocollares fueron localizados mensualmente desde diciembre de 2002 a febrero 2005. Un único ejemplar no pudo ser monitoreado (Edu), cuando se logró la visualización del individuo se detectó una falla en la antena del radiocollar. Dos machos y una hembra fueron monitoreados por un período muy corto (4-5 meses), debido a mortandad de los ejemplares. No fue posible determinar las causas de estas muertes. Seis ejemplares (dos machos y cuatro hembras) fueron monitoreadas por un período de entre 18 y 21 meses.

### 3.4.2 Uso del ambiente

Para los individuos que se monitorearon por un período mayor al año, se obtuvo el área de ocupación tanto por el método de Kernel como del MPC. En la Figura 3.1 se detalla, para un ejemplar, tanto las localizaciones como las estimaciones de área de ocupación por estos dos métodos.



**Figura 3.1:** Área de ocupación de Julia, los puntos detallan las localizaciones del ejemplar en el período de estudio; la zona rayada comprende el área del MPC; área dentro de línea violeta comprende la región del estimativo de Kernel 50% mientras que la línea azul comprende la región de Kernel de 95%.

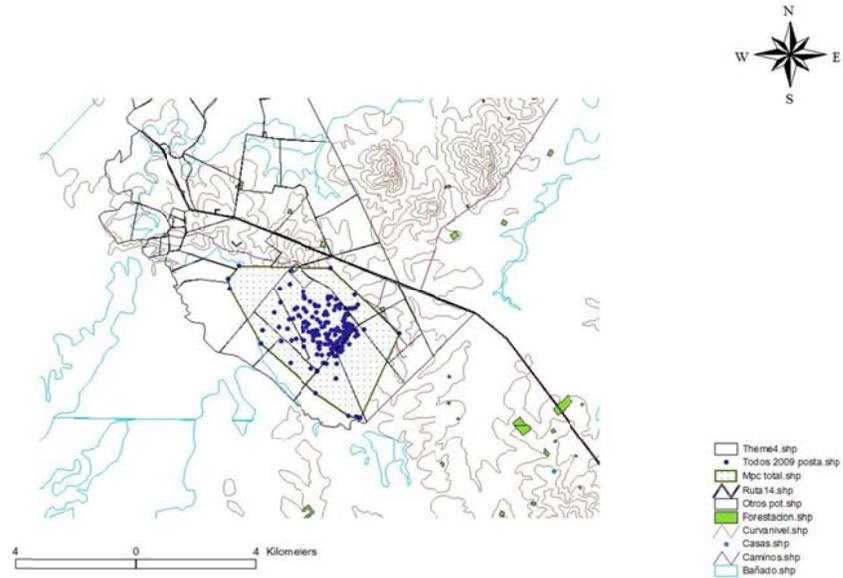
En la Tabla 3.1 se detalla el período de monitoreo, el número de localizaciones y las estimativas de área de ocupación de cada ejemplar. Para los individuos con más de diez meses de seguimiento se obtuvo un tamaño medio de ocupación de área (MPC) de  $5,95 \text{ Km}^2$  con un mínimo de  $4,19$  y un máximo de  $7,97 \text{ Km}^2$ . Para el grupo de los machos obtuvimos una media de  $4,11 \text{ Km}^2$  con un mínimo de  $2,42$  y un máximo de  $7,97 \text{ Km}^2$ ; mientras que para las hembras el valor medio fue de  $3,26 \text{ Km}^2$  con un mínimo de  $1,23$  y un máximo de  $5,04 \text{ Km}^2$ . No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el análisis de varianza del tamaño del ámbito hogar en función del sexo de los individuos.

**Tabla 3.1:** Detalle de las características de los individuos monitoreados: sexo, edad al momento de la captura, el período de monitoreo, número de localizaciones, tamaño de grupo y ámbito hogar estimado (Kernel 95 y 50% y MPC).

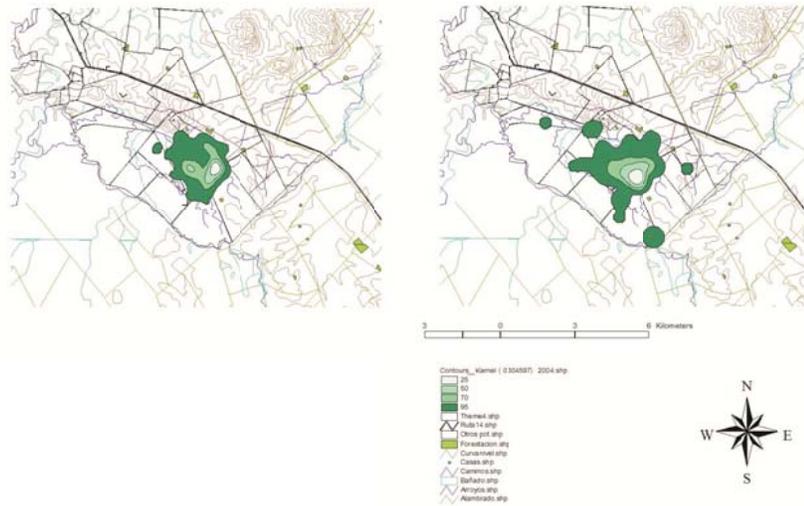
| Nombre         | Edad<br>(años) | Seguimiento<br>(meses) | n  | Tamaño<br>de grupo | Kernel<br>95% | 50%  | MPC  |
|----------------|----------------|------------------------|----|--------------------|---------------|------|------|
| <b>Machos</b>  |                |                        |    |                    |               |      |      |
| Lula           | 3              | 5                      | 5  | 2                  | 5,28          | 1,12 | 1,27 |
| Edu            | 4              | obs. abril, 2004       |    |                    |               |      |      |
| Galloper       |                | 21                     | 30 | 1                  | 4,39          | 0,56 | 4,19 |
| Brad Pitt      | 4              | 20                     | 29 | 8                  | 9,28          | 0,90 | 7,97 |
| Tiburón        | 3              | 5                      | 4  |                    | 2,28          | 0,67 | 0,36 |
| <b>Hembras</b> |                |                        |    |                    |               |      |      |
| Susanita       | 4              | 18                     | 15 | 2                  | 8,68          | 1,20 | 6,26 |
| Ana Clara      | 3              | 21                     | 35 | 6                  | 4,50          | 0,76 | 5,04 |
| Sol            | 2              | 21                     | 37 | 6                  | 3,30          | 0,53 | 5,66 |
| Julia          | 3              | 21                     | 25 | 10                 | 5,50          | 1,33 | 6,62 |
| Bonita         | 18 m.          | 5                      | 4  | 3                  | 0,81          | 0,13 | 0,10 |

En el período de monitoreo se obtuvieron un total de 184 localizaciones. El área de ocupación total fue de 16,83 km<sup>2</sup> (Figura 3.2). El área de ocupación por el método de estimación de Kernel (95%) (para todos los individuos) fue de 6,18 km<sup>2</sup>, mientras que el área de mayor densidad de ocupación (50% core área), fue de 0,87 km<sup>2</sup>. El análisis de uso del espacio para dos años consecutivos (2003–2004); mostró cierta consistencia en el tamaño de área de ocupación (MPC: 12,9 km<sup>2</sup> y 13,5 km<sup>2</sup> respectivamente) con una leve expansión en el último año y una permanencia también en las áreas de mayor utilización (50% de densidad de Kernel). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de varianza del área de ocupación de los individuos en función del año (ver Figura 3.3). La región de mayor utilización por parte de los venados monitoreados coincide con la zona de captura y a su vez

también se centra en los potreros Sauce Caído I, II y III, en los cuales existía cultivo de gramíneas de pastoreo para ganado bovino.



**Figura 3.2:** Mapa de la zona de monitoreo, se detallan los puntos de localización de los ejemplares y el área total de ocupación, obtenido en 26 meses de seguimiento.



**Figura 3.3:** Estimación de ámbito hogar de densidad de Kernel para todos los ejemplares, se detallan dos años de monitoreo, 2003 a la izquierda y 2004 a la derecha de la figura.

Se halló una variación en el área total de ocupación de los venados monitoreados, en función de la estación (Tabla 3.2). Sin embargo el análisis de  $\chi^2$  no observó una diferencia estadísticamente significativa entre lo observado y lo esperado.

No detectamos diferencias en la variación en el área de ocupación, según estación, entre el conjunto de hembras y machos monitoreados (Tabla 3.3). Estos resultados fueron confirmados con un análisis de  $\chi^2$  que no estimó una diferencia estadísticamente significativa entre lo observado y lo esperado.

**Tabla 3.2:** Área de ocupación para todos los individuos monitoreados en el período de estudio, discriminando según la estación.

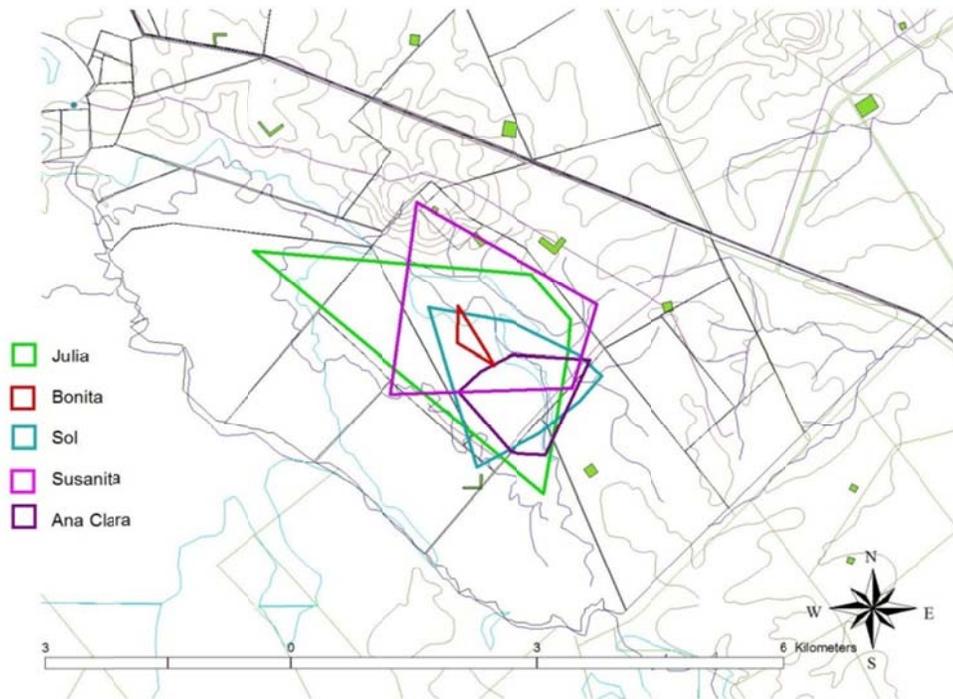
| Área Total<br>De Ocupación<br>Km2 | 2002-2005 |               |      |       |
|-----------------------------------|-----------|---------------|------|-------|
|                                   | n         | Kernel<br>95% | 50%  | MPC   |
| TOTAL                             | 184       | 6,17          | 0,87 | 16,83 |
| Verano                            | 37        | 7,14          | 1,04 | 7,66  |
| Otoño                             | 68        | 7,63          | 1,21 | 10,64 |
| Invierno                          | 37        | 4,61          | 0,65 | 4,59  |
| Primavera                         | 42        | 10,54         | 1,15 | 9,05  |

**Tabla 3.3:** Área de ocupación para hembras y machos monitoreados en el período de estudio, discriminando según la estación.

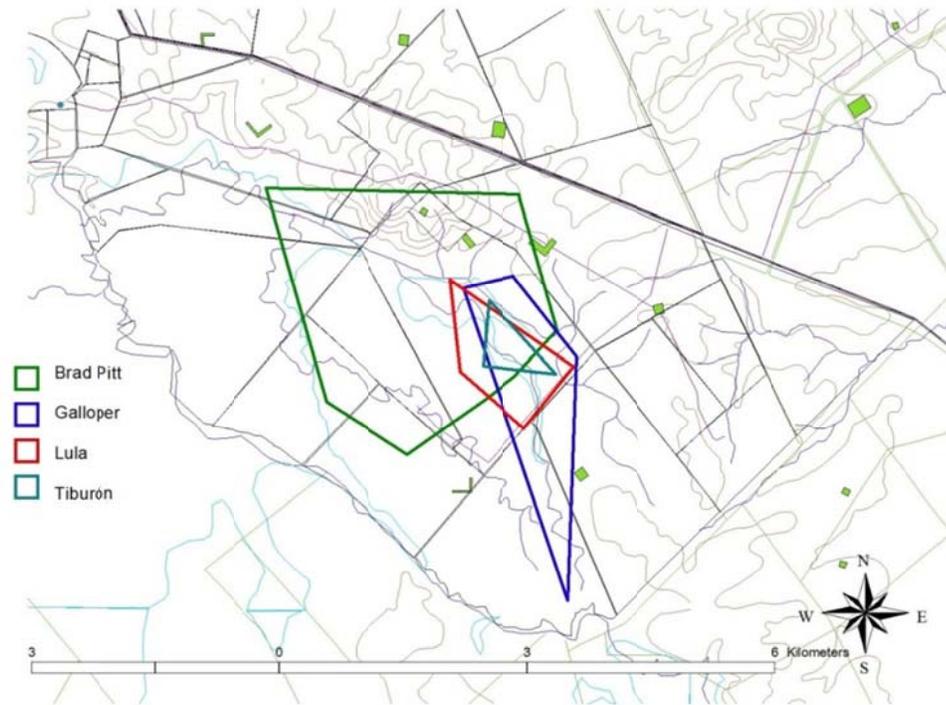
| Área Total<br>De Ocupación<br>Km2 | 2002-2005 |               |      |      |        |               |      |      |
|-----------------------------------|-----------|---------------|------|------|--------|---------------|------|------|
|                                   | Hembras   |               |      |      | Machos |               |      |      |
|                                   | n         | Kernel<br>95% | 50%  | MPC  | n      | Kernel<br>95% | 50%  | MPC  |
| Verano                            | 21        | 6,77          | 1,39 | 5,47 | 16     | 6,42          | 0,42 | 3,78 |
| Otoño                             | 43        | 6,86          | 1,25 | 8,77 | 25     | 9,55          | 1,19 | 7,29 |
| Invierno                          | 23        | 4,48          | 0,29 | 3,33 | 14     | 3,79          | 0,56 | 2,52 |
| Primavera                         | 29        | 8,56          | 1,31 | 7,08 | 13     | 12,48         | 3,61 | 6,59 |

### 3.4.3 Solapamiento espacial

Encontramos cierto grado de solapamiento en el uso del espacio, tanto entre hembras como entre machos (Figuras 3.4 y 3.5).



**Figura 3.4:** Solapamiento espacial encontrado en el ámbito hogar estimado para las diferentes hembras durante 2003.

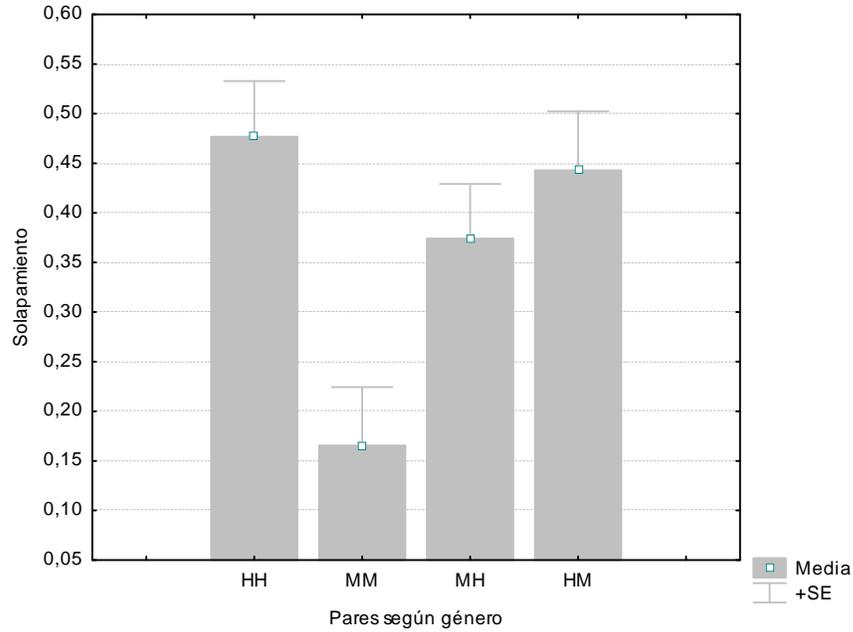


**Figura 3.5:** Solapamiento espacial encontrado en el ámbito hogar estimado para los diferentes machos durante 2003.

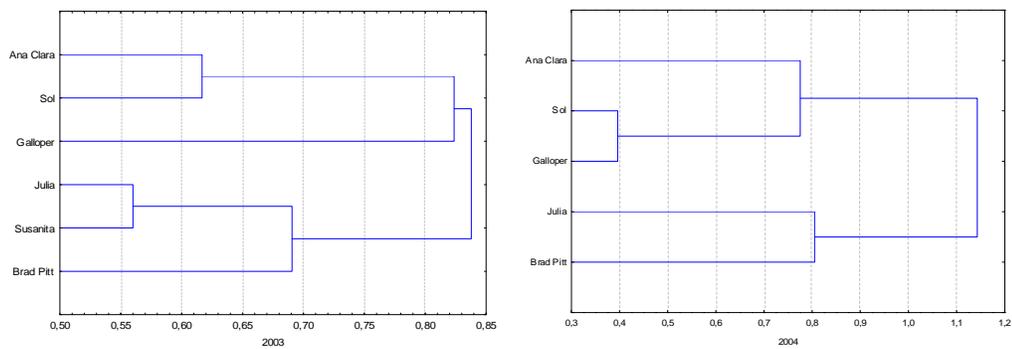
Los valores obtenidos para el grado de solapamiento tanto en función de la estimación S como SM se detallan en los Apéndices 3.3 y 3.4. El grado de solapamiento (S) entre hembras resultó ser el más importante, seguido por el solapamiento de los machos sobre los ámbitos hogar de las hembras, el de las hembras sobre los ámbitos de machos y finalmente el de menor extensión fue el solapamiento de machos sobre áreas ocupadas por otros machos (Figura 3.6).

El resultado del análisis de clúster sobre la matriz de solapamiento (SM), determinó asociaciones entre los individuos que son consistentes para los dos años de estudio (Figura 3.7). Cada uno de los machos se hallaba

más asociado (especialmente) con dos hembras que a su vez presentaban una asociación en la utilización del ambiente.



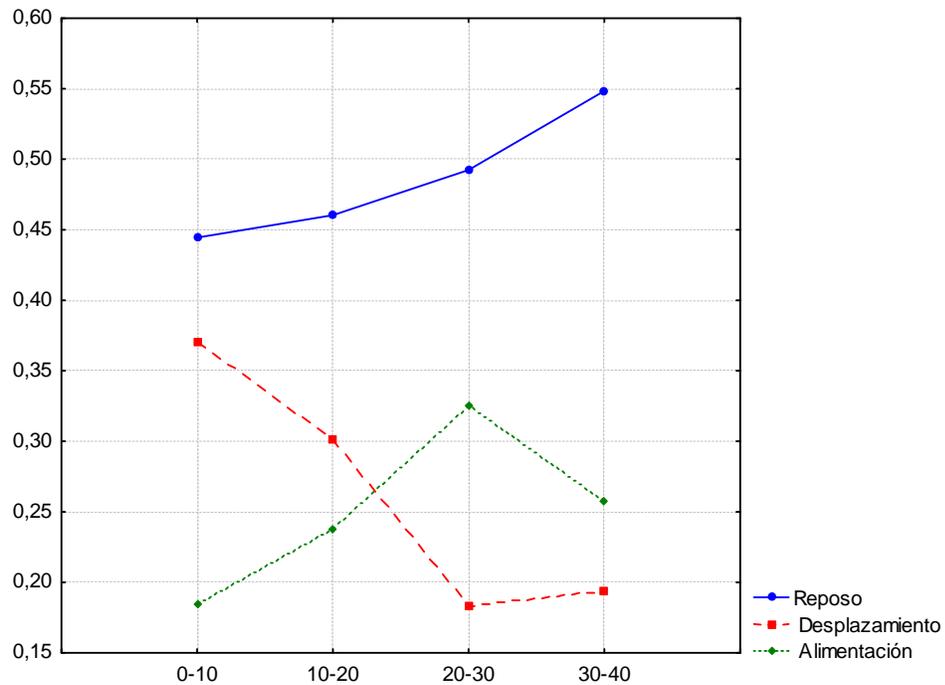
**Figura 3.6:** Solapamiento en el ámbito hogar (media y desvío estándar) entre venados de campo del mismo y diferente género. El solapamiento fue computado como interacciones estáticas entre animales.



**Figura 3.7:** Resultado del análisis de clúster sobre la matriz de solapamiento medio (S) para pares de venados. Vemos que hay asociaciones en la utilización del ambiente, que son consistentes para los dos años de monitoreo.

#### 3.4.4 Patrón de actividad

Los resultados del patrón de actividad en función de la temperatura y el análisis de  $X^2$  se detallan en los Apéndices 3.5 y 3.6. Cuando la temperatura era menor a 10°C no había un patrón de actividad predominante ( $X^2= 5,77$ ; GL= 2;  $p<0,06$ ). A partir de los 10°C se observa una variación en las actividades. Para el rango de temperatura de 11°C a 20°C se obtuvo un valor de  $X^2= 9,9$  (GL= 2;  $p<0,007$ ); de 21°C a 30°C el valor de  $X^2$  fue 28,39 (GL= 2;  $p<0,000001$ ); y de 31°C a 40°C el valor de  $X^2$  fue 6,65 (GL= 2;  $p<0,04$ ). A medida que aumenta la temperatura hay un aumento de la proporción de individuos que están en reposo (el valor máximo se encuentra entre los 30-40°C con más de la mitad de los individuos en reposo; la actividad de alimentación aumenta desde los 10°C hasta los 30°C a partir de la cual decrece (Figura 3.8).



**Figura 3.8:** Gráfica de la proporción de individuos monitoreados en las actividades de reposo, desplazamiento y alimentación, en función de la temperatura.

### 3.5 Discusión

En este trabajo se analiza el ámbito hogar por un período de dos años.

Los ejemplares de venados marcados con radiocollares presentaron una supervivencia diferencial. Tres ejemplares (dos machos y una hembra) murieron en los primeros cinco meses de monitoreo. Un único individuo no pudo ser monitoreado por fallas técnicas del radiocollar. La sobrevivencia del resto de los ejemplares fue de entre 18 y 21 meses, con un ejemplar hembra que seguía viva en noviembre de 2007. La media del ámbito hogar (MPC) para todo el período de estudio fue de 5,9 Km<sup>2</sup>, es importante considerar que los ejemplares capturados tenían más de un año

de edad, de manera que no se apreciaron movimientos de dispersión de juveniles.

### 3.5.1 Tamaño del ámbito hogar inter-poblacional

El análisis de ámbito hogar para otras poblaciones de venado de campo sitúan los resultados para las poblaciones uruguayas con los ámbito hogar más reducidos (0,18–0,52 km<sup>2</sup> para El Tapado (Moore 2001)) y Los Ajos con ámbitos hogar con una media de 5,95 km<sup>2</sup> (min: 4,19; max: 7,97 km<sup>2</sup>) (MPC 100%) y de 0,88 km<sup>2</sup> (min: 0,53; max: 1,33 km<sup>2</sup>) (Kernel 50%), la media para la población de Samborombón 8,97 km<sup>2</sup> (min: 2,46; max: 23,96 km<sup>2</sup>) (MPC 95%) y 1,98 km<sup>2</sup> (min: 0,37; max: 5,18 km<sup>2</sup>) (MPC 50%) (Vila *et al.* 2008). En la Reserva Ecológica de Brasil, Leeuwenberg *et al.* (1997) registran el área de vida de un macho y una hembra que resultaron ser de 9,9 y 5,9 km<sup>2</sup>, respectivamente. En la población de el Pantanal (Brasil), Lacerda (2008) observa un tamaño promedio de 5,77 km<sup>2</sup> (min: 0,53; max: 80,86 km<sup>2</sup>) para la estimación de MPC (100%), y para la estimación de Media armónica (50%) el promedio fue de 0,10 km<sup>2</sup> (min: 0,0011; max: 0,75 km<sup>2</sup>). Finalmente, para la población de Parque Nacional de Emas, se describen los mayores ámbitos hogares para la especie: 82,3 km<sup>2</sup> (min: 48; max: 146,8 km<sup>2</sup>) (Rodrigues & Monteiro-Filho 2000).

Se aprecian diferencias en el valor medio de ámbito hogar en las distintas poblaciones. Estas variaciones pueden deberse, en parte, a las diferencias en la metodología utilizada (MPC, Media armónica y Kernel), así como al tiempo de monitoreo. A su vez, también son muy amplias las diferencias

entre individuos a nivel intrapoblacional. Cabe destacar, de todas maneras, que los datos aportados por Rodrigues & Monteiro-Filho (2000) sobre la población Emas, son los que realmente muestran una diferenciación en el tamaño del ámbito hogar. Los autores, en este trabajo, no hallaron diferencias en el ámbito hogar en función de la estación. Lacerda (2008) plantea que la población de Emas ocupa el Cerrado brasileiro que presenta una importante caída en la biomasa durante la estación seca, debido a una predominancia de formaciones dominadas por gramíneas del tipo C4 y herbáceas terrestres anuales, que determinaría que los venados, responden aumentando el tamaño del ámbito hogar para completar sus requerimientos energéticos. Revilla & Wiegand (2008) plantean una matriz compleja de factores que determinan la dinámica poblacional espacialmente estructurada. Entre los factores se incluyen la supervivencia y reproducción, pero también factores internos del individuo (requerimiento y motivación) y externos del medio ambiente, que son procesados en función de las capacidades del individuo de movimiento y navegación.

### 3.5.2 Variación del tamaño del ámbito hogar

Los resultados obtenidos en este trabajo no nos permiten aceptar la hipótesis de existencia de variación en el tamaño del ámbito hogar en función de las características individuales. Estos resultados son coincidentes con la mayoría de los estudios sobre el uso del ambiente diferencial entre machos y hembras de venado de campo o entre épocas del año o tipo de ambiente (Lacerda 2008; Leeuwenberg *et al.* 1997; Moore 2001; Rodrigues & Monteiro-Filho 2000).

En la población Los Ajos, el área de mayor utilización del ambiente coincide con potreros de pastoreo con carga de ganado bovino. Ya se ha observado para esta población una coexistencia con este ganado a nivel de solapamiento espacial (Cosse *et al.* 2009). Mientras que para la población de Samborombón, Vila *et al.* (2008) encontraron que frente a la presencia de ganado bovino se reducía el tamaño del ámbito hogar en relación al que presentaban en ausencia del mismo.

### 3.5.3 Solapamiento espacial

Para la población de Emas, Rodrigues & Monteiro-Filho (2000) estiman (en base al número de venados que ocupan un área dada) que hay un solapamiento entre los ámbito hogar de los individuos de un 80%. Para la población de Samborombón se observó que el solapamiento (medido como M, ver ecuación 5.1) era de un 70% para los pares macho-macho y hembra-macho, mientras que tomaba valores en el entorno del 30% para los pares hembra-hembra y macho-hembra (Vila *et al.* 2008). Para El Tapado se observa un solapamiento leve que no es cuantificado (Moore 2001). En Los Ajos observamos un grado de solapamiento bastante inferior a lo hallado en los otros trabajos, con una media de SM para los machos de 17%, para los pares de hembras de 48%, hembras-machos: 44% y machos-hembras de 37%. Las diferencias más notorias se observaron entre machos, aunque es importante destacar que contamos para este grupo dos ejemplares. Sin embargo, cuando analizamos el valor de S entre pares de individuos y vemos el nivel de solapamiento espacial para cada uno de los dos años de monitoreo, se constata una asociación espacial permanente entre los individuos. Es importante destacar que se ha comprobado para

algunas especies un mayor solapamiento entre individuos cercanamente emparentados (Chaverri *et al.* 2007). A su vez si la población presentara una estructura de agrupaciones familiares estables, esperaríamos encontrar un nivel de solapamiento diferencial entre distintos individuos de la población como el que estamos observando en Los Ajos.

Las diferencias en el grado de solapamiento en el ámbito hogar pueden reflejar los efectos independientes y combinados de la demografía y afinidades sociales. Por ejemplo, la movilidad reducida y el subsecuente aumento en el solapamiento en las áreas de ocupación entre individuos, puede ocurrir como una respuesta a una alta densidad poblacional. Se ha documentado también que la abundancia en los recursos tiene un efecto significativo en el rango de solapamiento y puede ser en última instancia la fuerza predominante en la determinación de las interacciones sociales. Por ejemplo, la relación entre cantidad de comida y solapamiento o territorialidad, se sabe que representa una curva gaussiana. De manera que cuando la abundancia de alimentos es baja, el costo de defender los recursos es más alto que la energía disponible por estos recursos, de manera que se puede esperar un incremento en el solapamiento. La tasa costo-beneficio cambia hacia áreas territoriales y reducción del solapamiento en la medida que los recursos aumentan, hasta el punto donde los recursos se tornan abundantes, donde el costo de la defensa de los intrusos se torna muy alto y la territorialidad decrece nuevamente. Las diferencias en el rango de solapamiento deben ocurrir entre individuos que ocupan áreas que se diferencian en la abundancia y distribución de los recursos (Chaverri *et al.* 2007).

### 3.6 Bibliografía

- Börger L, Dalziel BD, Fryxell JM. 2008. Are there general mechanisms of animal home range behaviour? A review and prospects for future research. pp. 637–50: Blackwell Publishing Ltd
- Börger L, Franconi N, Ferretti F, Meschi F, Michele Giampiero D, *et al.* 2006. An Integrated Approach to Identify Spatiotemporal and Individual-Level Determinants of Animal Home Range Size. *The American Naturalist* 168:471–85
- Burt WH. 1943. Territoriality and Home Range Concepts as Applied to Mammals. *Journal of Mammalogy* 24:346–52
- Clutton-Brock TH. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences* 236:339–72
- Cosse M, González S, Gimenez-Dixon M. 2009. Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia* 99:158–64
- Chaverri G, Gamba-Rios M, Kunz TH. 2007. Range overlap and association patterns in the tent-making bat *Artibeus watsoni*. *Animal Behaviour* 73:157–64
- Fryxell JM, Hazell M, Börger L, Dalziel BD, Haydon DT, *et al.* 2008. Multiple movement modes by large herbivores at multiple spatiotemporal scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:19114–9
- Gibbs M, Saastamoinen M, Coulon A, Stevens VM. 2010. Organisms on the move: ecology and evolution of dispersal. *Biology Letters* 6:146–8
- González S, Duarte JMB. 2003. Emergency Pampas deer capture in Uruguay. *Deer Specialist Group News* 18:16–7
- Gordon IJ, Alison JH, Festa-Bianchet M. 2004. The management of wild large herbivores to meet economic, conservation and environmental objectives. *Journal of Applied Ecology* 41:1021–31
- Hooge PN, Eichenlaub B. 2000. Animal movement extension to Arcview. ed. USGS Alaska Science Center – Biological Science Office. Anchorage, AK, USA

- Lacerda ACR. 2008. *Ecologia e estrutura social do veado-campeiro (Ozotoceros bezoarticus) no Pantanal*. Ph.D. dissertation. Universidade de Brasília Brasília. 194 pp.
- Leeuwenberg FJ, Lara Resende S, Rodrigues FHG, Bizerril MXA. 1997. Home range, activity and habitat use of the Pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* L., 1758 (Artiodactyla, Cervidae) in the Brazilian Cerrado. *Mammalia* 61:487-95
- Marzluff JM, Knick ST, Millsbaugh JJ, Joshua JM, John MM. 2001. High-Tech Behavioral Ecology: Modeling the Distribution of Animal Activities to Better Understand Wildlife Space Use and Resource Selection. In *Radio Tracking and Animal Populations*, pp. 309-26. San Diego: Academic Press
- Mohr C. 1947. Table of equivalent populations of North American small mammals. *American Midland Naturalist, Notre Dame* 37:223-49
- Moore D. 2001. *Aspects of the behavior, ecology and conservation of the Pampas Deer*. Ph.D. dissertation. State University of New York Syracuse, New York. 282 pp.
- Nams VO. 2000. LOCATE II. V. 2.81.
- Owen-Smith N, Fryxell JM, Merrill EH. 2010. Foraging theory upscaled: the behavioural ecology of herbivore movement. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365:2267-78
- Pinder L. 1997. Niche overlap among Brown Brocket Deer, Pampas Deer, and cattle in the Pantanal of Brazil
- Revilla E, Wiegand T. 2008. Individual movement behavior, matrix heterogeneity, and the dynamics of spatially structured populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105:19120-5
- Rodrigues FHG, Monteiro-Filho ELA. 2000. Home range and activity patterns of pampas deer in Emas National Park, Brazil. *Journal of Mammalogy* 81:1136-42
- Seaman ED, Powell RA. 1996. An evaluation of the accuracy of kernel density estimators for home range analysis. *Ecology*. 77:2075
- Struve J, Lorenzen K, Blanchard J, Bärger L, Bunnefeld N, *et al.* 2010. Lost in space? Searching for directions in the spatial modelling of individuals, populations and species ranges. *Biology Letters* 6:575-8

- Vila AR, Beade MS, Barrios Lamunière D. 2008. Home range and habitat selection of pampas deer. *Journal of Zoology* 276:95-102
- White GC, Garrott RA. 1990. *Analysis of wildlife radio-tracking data*. San Diego: Academic Press. 383 pp.
- Wingfield JC. 2009. The Concept of Allostasis: Coping with a capricious environment. *Journal of Mammalogy* 86:248-54
- Worton BJ. 1989. Kernel Methods for Estimating the Utilization Distribution in Home-Range Studies. *Ecology* 70:164-8

## 3.7 Apéndices

**Apéndice 3.1:** Ficha de captura. Información colectada en la captura de los ejemplares monitoreados.

Identificación:

|              |          |                    |                  |
|--------------|----------|--------------------|------------------|
| Nombre       |          | Sexo               | Edad Aproximada  |
| Caravana     |          | Transponder        | Radio-Transmisor |
| Fecha        | Latitud  | Visualización/Hora | Manip./Inicio    |
| Local        | Longitud | Captura/Hora       | Manip./Final     |
| Tipo Captura | Captor   | Anestesiista       | Estación         |

Biometría:

|                       |                   |                 |
|-----------------------|-------------------|-----------------|
| Largo asta izq.:      | Diam. astas izq.: | N° puntas izq.: |
| Largo asta der.:      | Diam. astas der.: | N° puntas der.: |
| Estadio de las astas: | Entre astas:      | Oreja:          |
| Largo cabeza:         | Ancho cabeza:     | Entre ojos:     |
| Mandíbula:            | Metacarpo:        | Altura:         |
| Cuerpo:               | Cola:             | Metatarso:      |
| Tórax:                | Abdomen:          | Per. cuello:    |
| Diam. test. izq.:     | Largo test. esq:  | Peso:           |
| Diam. test. der:      | Largo test. dir:  |                 |

Anestesia:

|       |        |      |
|-------|--------|------|
| Droga | Dosage | Hora |
|-------|--------|------|

T° ambiente:

| Tiempo                    | 5 Min | 15 Min | 25 Min | 35 Min | 45 Min | 55 Min |
|---------------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Freq. Cardíaca            |       |        |        |        |        |        |
| Freq. Resp.               |       |        |        |        |        |        |
| T° Rectal                 |       |        |        |        |        |        |
| Saturación O <sub>2</sub> |       |        |        |        |        |        |
| Presión Arterial          |       |        |        |        |        |        |
| R. Palpebral              |       |        |        |        |        |        |
| R. Interdigital           |       |        |        |        |        |        |
| R. Genital                |       |        |        |        |        |        |
| Sensib Cutánea            |       |        |        |        |        |        |
| Rotación Go               |       |        |        |        |        |        |
| Relax. Muscular           |       |        |        |        |        |        |

Reflejos/Sensib cut. (0) = ausencia; (+) = reducido; (++) = presente

Rel. musc.: (-) = hipertonia; (0) = ausencia; (+) = moderado; (++) = suficiente

Recuperación: ( ) Tranquila ( ) Agitada ( ) Muy agitada

Material Colectado y procedimientos

| Tipo de muestra | especificación    | C* | observaciones |
|-----------------|-------------------|----|---------------|
| Sangre          | Heparina (1)      |    |               |
| Sangre          | edta ( )          |    |               |
| Sangre          | s/anticoag. ( )   |    |               |
| Piel            | alcohol           |    |               |
| Ectoparásitos   | alcohol.          |    |               |
| Pelos           | alcohol           |    |               |
| Fecas           | s.plástico        |    |               |
| Leche           |                   |    |               |
| Marcación       | Caravana          |    |               |
| Fotografía      |                   |    |               |
| Piportil        | 2mg/kg            |    |               |
| Antibiótico     | 40000UI/kg benzat |    |               |
| Anti-helmíntico | Ivomec (2ml/50kg) |    |               |
| Front-line      | 1 amp/40kg        |    |               |

**Apéndice 3.2:** Se detalla número, características en el momento de la captura y medidas biométricas de los ejemplares capturados y posteriormente monitoreados. Sexo: Hembra (H); Macho (M). Estado reproductivo: Preñada (P); Lactando (L).

| N°    | Sexo | Nombre    | Edad  | Estado reproductivo | Masa (KG.) | Metacarpo | Metatarso | Altura | Largo cabeza | Oreja | Cuerpo | Cola | Per. cuello | Mandíbula | Tórax | Entre ojos |
|-------|------|-----------|-------|---------------------|------------|-----------|-----------|--------|--------------|-------|--------|------|-------------|-----------|-------|------------|
| SG127 | H    | Susanita  | 4     | P                   | 25         | 17        | 24        |        | 25           | 11    | 80     | 12   | 23          | 6,5       | 64    | 6          |
| SG131 | H    | Ana Clara | 3     | P                   | 27         | 16        | 23,5      | 62     | 26           | 10,5  | 91     | 11   | 26          | 7,7       | 66    | 6,5        |
| SG132 | H    | Sol       | 2     |                     | 29         | 17        | 22        | 62     | 25           | 11    | 86     | 9,5  | 24,5        | 7,1       | 66    | 6,6        |
| SG133 | H    | Julia     | 3     | L                   | 25         | 16        | 24        | 63     | 24           | 10    | 86     | 12   | 23          | 7,2       | 64    | 5,5        |
| SG137 | H    | Bonita    | 18 m. | P                   | 22         | 16        | 24        |        | 24           | 11,5  | 80     | 14   | 22          | 7         | 58,5  | 5,9        |
| SG124 | M    | Lula      | 3     |                     | 35         | 17        | 24        | 66     | 27,5         | 11    | 95     | 12   | 34          | 7,5       | 75    | 7          |
| SG125 | M    | Edu       | 4     |                     | 25         | 8         | 25        | 67     | 26           | 12    | 83,5   | 11   | 29,5        | 7,4       | 69,5  | 6,6        |
| SG126 | M    | Brad Pitt | 4     |                     | 35         | 27        | 24,5      |        | 29           | 11    | 89     | 14,5 | 32          | 8         | 74    | 7,1        |
| SG129 | M    | Galloper  |       |                     | 31         | 8         | 24,5      | 66     | 28           | 11,5  | 93     | 11   | 31          | 7,85      | 70    | 7          |
| SG130 | M    | Tiburón   | 3     |                     |            | 17        | 23        | 62     |              | 11    | 88     | 11   | 28,5        | 7         | 71,5  | 6,8        |

**Apéndice 3.3:** Datos obtenidos del análisis de solapamiento (S) para pares de individuos por año. Sexo de los grupos: Hembras (HH); Machos (MM); Mixtos (HM).

| Año  | Área De   | Ocupada por : | Solapamiento | Sex | Cod |
|------|-----------|---------------|--------------|-----|-----|
| 2003 | Ana Clara | Sol           | 0,90         | HH  | 1   |
| 2003 | Ana Clara | Galloper      | 0,64         | HM  | 4   |
| 2003 | Ana Clara | Julia         | 0,89         | HH  | 1   |
| 2003 | Ana Clara | Brad Pitt     | 0,24         | HM  | 4   |
| 2003 | Ana Clara | Susanita      | 0,38         | HH  | 1   |
| 2003 | Sol       | Ana Clara     | 0,50         | HH  | 1   |
| 2003 | Sol       | Galloper      | 0,46         | HM  | 4   |
| 2003 | Sol       | Julia         | 0,88         | HH  | 1   |
| 2003 | Sol       | Brad Pitt     | 0,54         | HM  | 4   |
| 2003 | Sol       | Susanita      | 0,58         | HH  | 1   |
| 2003 | Galloper  | Ana Clara     | 0,33         | MH  | 3   |
| 2003 | Galloper  | Sol           | 0,43         | MH  | 3   |
| 2003 | Galloper  | Julia         | 0,63         | MH  | 3   |
| 2003 | Galloper  | Brad Pitt     | 0,35         | MM  | 2   |
| 2003 | Galloper  | Susanita      | 0,50         | MH  | 3   |
| 2003 | Julia     | Ana Clara     | 0,21         | HH  | 1   |
| 2003 | Julia     | Sol           | 0,38         | HH  | 1   |
| 2003 | Julia     | Galloper      | 0,30         | HM  | 4   |
| 2003 | Julia     | Brad Pitt     | 0,75         | HM  | 4   |
| 2003 | Julia     | Susanita      | 0,55         | HH  | 1   |
| 2003 | Brad Pitt | Ana Clara     | 0,04         | MH  | 3   |
| 2003 | Brad Pitt | Sol           | 0,15         | MH  | 3   |
| 2003 | Brad Pitt | Galloper      | 0,11         | MM  | 2   |
| 2003 | Brad Pitt | Julia         | 0,49         | MH  | 3   |
| 2003 | Brad Pitt | Susanita      | 0,42         | MH  | 3   |
| 2003 | Susanita  | Ana Clara     | 0,12         | HH  | 1   |
| 2003 | Susanita  | Sol           | 0,33         | HH  | 1   |
| 2003 | Susanita  | Galloper      | 0,31         | HM  | 4   |
| 2003 | Susanita  | Julia         | 0,73         | HH  | 1   |
| 2003 | Susanita  | Brad Pitt     | 0,85         | HM  | 4   |
| 2004 | Ana Clara | Sol           | 0,38         | HH  | 1   |
| 2004 | Ana Clara | Galloper      | 0,41         | HM  | 4   |
| 2004 | Ana Clara | Julia         | 0,11         | HH  | 1   |
| 2004 | Ana Clara | Brad Pitt     | 0,20         | HM  | 4   |
| 2004 | Sol       | Ana Clara     | 0,61         | HH  | 1   |

| Año  | Área De   | Ocupada por : | Solapamiento | Sex | Cod |
|------|-----------|---------------|--------------|-----|-----|
| 2004 | Sol       | Galloper      | 0,73         | HM  | 4   |
| 2004 | Sol       | Julia         | 0,30         | HH  | 1   |
| 2004 | Sol       | Brad Pitt     | 0,04         | HM  | 4   |
| 2004 | Galloper  | Ana Clara     | 0,65         | MH  | 3   |
| 2004 | Galloper  | Sol           | 0,73         | MH  | 3   |
| 2004 | Galloper  | Julia         | 0,24         | MH  | 3   |
| 2004 | Galloper  | Brad Pitt     | 0,10         | MM  | 2   |
| 2004 | Julia     | Ana Clara     | 0,27         | HH  | 1   |
| 2004 | Julia     | Sol           | 0,46         | HH  | 1   |
| 2004 | Julia     | Galloper      | 0,38         | HM  | 4   |
| 2004 | Julia     | Brad Pitt     | 0,36         | HM  | 4   |
| 2004 | Brad Pitt | Ana Clara     | 0,34         | MH  | 3   |
| 2004 | Brad Pitt | Sol           | 0,04         | MH  | 3   |
| 2004 | Brad Pitt | Galloper      | 0,11         | MM  | 2   |
| 2004 | Brad Pitt | Julia         | 0,25         | MH  | 3   |

**Apéndice 3.4:** Matriz con porcentaje de áreas de solapamiento (SM) para pares de individuos por año.

| SM 2003   | Ana Clara | Sol  | Galloper | Julia | Brad Pitt | Susanita |
|-----------|-----------|------|----------|-------|-----------|----------|
| Ana Clara | 1,00      | 0,64 | 0,43     | 0,34  | 0,06      | 0,18     |
| Sol       | 0,64      | 1,00 | 0,45     | 0,53  | 0,24      | 0,42     |
| Galloper  | 0,43      | 0,45 | 1,00     | 0,40  | 0,16      | 0,38     |
| Julia     | 0,34      | 0,53 | 0,40     | 1,00  | 0,59      | 0,63     |
| Brad Pitt | 0,06      | 0,24 | 0,16     | 0,59  | 1,00      | 0,56     |
| Susanita  | 0,18      | 0,42 | 0,38     | 0,63  | 0,56      | 1,00     |
| Sm 2004   | Ana Clara | Sol  | Galloper | Julia | Brad Pitt |          |
| Ana Clara | 1,00      | 0,47 | 0,50     | 0,16  | 0,25      |          |
| Sol       | 0,47      | 1,00 | 0,73     | 0,36  | 0,04      |          |
| Galloper  | 0,50      | 0,73 | 1,00     | 0,30  | 0,10      |          |
| Julia     | 0,16      | 0,36 | 0,30     | 1,00  | 0,50      |          |
| Brad Pitt | 0,25      | 0,04 | 0,10     | 0,50  | 1,00      |          |

**Apéndice 3.5:** Patrón de actividad observado en función de la Temperatura. N representa el número de individuos registrados.

| Rango | Temperatura (°C) | N   | 1 (Descanso) | 2 (Caminando) | 3 (Comiendo) |
|-------|------------------|-----|--------------|---------------|--------------|
| 1     | -5-10            | 54  | 0,44         | 0,37          | 0,19         |
| 2     | 11-20            | 126 | 0,46         | 0,30          | 0,24         |
| 3     | 21-30            | 197 | 0,49         | 0,18          | 0,32         |
| 4     | 31-40            | 31  | 0,55         | 0,19          | 0,26         |

**Apéndice 3.6:** Análisis de  $\chi^2$  para cada uno de los rangos de temperatura y las actividades registradas para el mismo.

| Temperatura    | hasta 10°C |      | 11-20°C |      | 21-30°C   |       | 31-40°C |       |
|----------------|------------|------|---------|------|-----------|-------|---------|-------|
| Actividad      | Obs.       | Esp. | Obs.    | Esp. | Obs.      | Esp.  | Obs.    | Esp.  |
| Reposo         | 24         | 18   | 58      | 42   | 97        | 65,67 | 17      | 10,33 |
| Desplazamiento | 20         | 18   | 38      | 42   | 36        | 65,67 | 6       | 10,33 |
| Alimentación   | 10         | 18   | 30      | 42   | 64        | 65,67 | 8       | 10,33 |
| $\chi^2$       | 5,77       |      | 9,9     |      | 28,39     |       | 6,65    |       |
| GL             | 2          |      | 2       |      | 2         |       | 2       |       |
| p              | < 0,06     |      | < 0,007 |      | <0,000001 |       | < 0,04  |       |

## 4 ESTRUCTURA GENÉTICA

---

### 4.1 Antecedentes y justificación

La comprensión de los procesos que determinan la estructura genética de las poblaciones, así como los que determinan la variabilidad inter-poblacional, tiene implicancias para la biología evolutiva, la ecología y también para la biología de la conservación (Balloux & Lugon-Moulin 2002). Los planes de manejo de especies amenazadas deben considerar medidas que permitan mantener la variabilidad genética (Lettink *et al.* 2002). El acervo genético de una población estará determinado por la historia demográfica de dicho demo, así como por parámetros biológicos como la proporción de sexos, el sistema de apareamiento, la filopatría, el grado de endogamia, la tasa de reclutamiento, etc. A su vez, es necesaria la comprensión de las relaciones genéticas entre los individuos de una población así como el nivel de diversidad genética inter-poblacional. Es interesante también estimar el número efectivo de la población e identificar la ocurrencia de posibles cuellos de botella (o eventos tipo fundador) ya

que es bien conocida su importancia en los procesos estocásticos a nivel demográfico, endogamia, diferenciación y pérdida de diversidad genética, reduciendo el potencial evolutivo e incrementando la probabilidad de extinción de una población (Luikart *et al.* 1998; Palstra & Ruzzante 2008; Randall *et al.* 2009).

Cuando se analizan poblaciones que ocupan diferentes hábitats, es interesante comprender cómo las características geográficas y ambientales estructuran la variación genética, tanto a nivel de población como de individuos. Es posible entonces realizar una correlación entre los patrones genéticos de una población y las características del paisaje o ambiente que ocupa. Esta información tiene implicancias tanto ecológicas y evolutivas como para la biología de la conservación (Manel *et al.* 2003).

Hasta el momento los estudios moleculares en venado de campo se han basado específicamente en ADNmt y RAPDs (González *et al.* 1998; Rodrigues *et al.* 2007). Esta metodología ha sido de utilidad para definir Unidades de Manejo y Conservación (González *et al.* 1998). Sin embargo el análisis de loci de microsatélites, como marcadores nucleares co-dominantes, provee información adicional y con mayor resolución a la aportada por marcadores de herencia materna para poder determinar aspectos básicos de la sub-estructura poblacional.

#### 4.1.1 Marcadores genéticos hipervariables

Los microsatélites son marcadores genéticos de locus simple, que consisten en tándem repetidos de secuencias de entre dos y seis pares de bases de largo. Los loci repetidos simples evolucionan por ganancia y pérdida de las

unidades repetidas y son por tanto altamente polimórficos, revelando en general más de doce alelos para un locus simple (Jarne & Lagoda 1996; Zane *et al.* 2002). Estos marcadores evolucionan más rápidamente que el ADNmt y generalmente proveen una resolución más fina a nivel de la dinámica y estructura poblacional (Bidlack & Cook 2002; Maudet *et al.* 2002; Slatkin 1995).

La comprensión de tan altas tasas de mutación requiere detenerse en los sistemas moleculares que las generan. En general se apoya el mecanismo de deslizamiento (*slippage*) de la polimerasa durante la replicación del ADN; proceso que aumenta o disminuye el número de repetidos en una unidad. Algunos de estos errores son corregidos por los mecanismos de reparación, por actividad exonucleótica de *proofreading* de la polimerasa y de reparación de errores de ADN, sin embargo una proporción de los mismos pueden escapar de estos mecanismos y generar nuevas mutaciones. La inestabilidad observada en las secuencias repetidas simples se generan del balance entre los errores de replicación y su reparación por diferentes medios (Eisen 1999; Li *et al.* 2002).

Sin embargo, la misma línea de investigación permite explicar cambios de más de una unidad repetida por otro tipo de procesos como el entrecruzamiento desigual y la recombinación no-recíproca (conversión génica), generando eventos de mutación más importantes. El entrecruzamiento desigual junto con la deriva génica y la selección pueden tener un efecto importante en la acumulación de secuencias repetidas en tándem en el genoma (Jarne & Lagoda 1996; Li *et al.* 2002).

#### 4.1.1.1 Modelos de mutación

La comprensión de los modelos que subyacen a la evolución de los microsatélites es clave para el desarrollo de una estadística precisa que pueda reflejar la estructuración genética.

Balloux & Lugon-Moulin (2002) presentan una interesante revisión de los distintos modelos de mutación para microsatélites, desarrollados por genetistas de poblaciones. Estos modelos presentan dos extremos: el Modelo de Alelos Infinitos (IAM) del inglés *Infinite Alleles Model* (Kimura & Crow 1964) y el Modelo de Mutación de un Paso (SMM) *Stepwise Mutation Model* (Kimura & Ohta 1978).

En el IAM, cada mutación crea un alelo nuevo a una tasa dada de  $u$ . Este modelo entonces no permite la homoplasia. Alelos idénticos comparten el mismo ancestro y son idénticos por descendencia (IBD). En el otro extremo tenemos el Modelo de Mutación de un Paso SMM (Kimura & Ohta 1978). Bajo este escenario, cada mutación crea un alelo nuevo tanto por adición como por pérdida de una única unidad repetida simple, con una probabilidad  $u/2$  para ambas direcciones. Dos alelos de tamaños muy diferentes estarán menos relacionados que dos alelos de tamaño similar. A diferencia del modelo anterior, este modelo tiene una memoria de tamaño de alelo. Un derivado de este modelo es el Modelo de Dos Fases (TPM), del inglés *Two-Phase Model* (Valdes *et al.* 1993), desarrollado para incluir eventos de mutación mayores (adición y deleción que comprenden más de una unidad repetida). Si la probabilidad de que una mutación genere un aumento o reducción en una unidad repetida es igual

a p, bajo este modelo el incremento o disminución en el tamaño del alelo en k repetidos tiene una probabilidad de  $(1 - p)^k$ , donde k sigue una distribución de probabilidad dada (Di Rienzo *et al.* 1994).

#### 4.1.2 Genética de la conservación

Los microsatélites son buenos marcadores para aplicar en estudios de conservación debido a su esperada neutralidad desde el punto de vista evolutivo, su abundancia y amplia distribución en el genoma así como su relativamente alto polimorfismo, aún en poblaciones que han sufrido procesos de cuello de botella y con pocas, o directamente sin, alozimas polimórficas (Maudet *et al.* 2002).

La genética molecular y en especial el análisis de loci de microsatélites, juegan un rol significativo en varias áreas del manejo de especies amenazadas como son: i) la determinación de la estructura genética de la población, ii) el establecimiento del sistema de apareamiento, iii) el grado de parentesco entre individuos conformando grupos y iv) la estimación del grado de variación genética dentro y entre las poblaciones.

Estos marcadores genéticos son útiles también para estimar flujo genético, tamaño poblacional, patrones de dispersión, organización social, así como niveles de endogamia. Esta información puede ser aplicada para determinar tráfico ilegal y para establecer planes de translocación (Armstrong *et al.* 2010; Beja-Pereira *et al.* 2004; Jarne & Lagoda 1996; Lettink *et al.* 2002; Ortega *et al.* 2002; van Hoof *et al.* 2003; Wang & Schreiber 2001).

#### 4.1.3 Caracterización de un set de microsatélites

Si bien los loci de microsatélites son rápida y fácilmente tipificables usando PCR (*Polymerase Chain Reaction*) su desventaja es que es necesario aislarlos *de novo* para la mayoría de las especies que son examinadas por primera vez (Zane *et al.* 2002). Sin embargo este procedimiento, que implica la construcción y análisis de librerías genómicas, secuenciación de ADN y diseño de cebadores, puede ser obviado utilizando cebadores diseñados para el análisis de microsatélites en especies filogenéticamente relacionadas. La amplificación cruzada (*cross-amplification*) de microsatélites es posible gracias a la existencia de regiones conservadas, que flanquean la región hipervariable, sobre las cuales se diseñan los cebadores. Existen numerosos trabajos donde se amplifican microsatélites en especies de cérvidos con cebadores diseñados para otros cérvidos así como para bovinos, ovinos y caprinos (Beja-Pereira *et al.* 2004; Engel *et al.* 1996; Galan *et al.* 2003; Gaur *et al.* 2003; Slate *et al.* 1998). Hasta el momento no se han realizado caracterizaciones de loci de microsatélites ni específicos ni no específicos, para el venado de campo. Es necesario entonces describir cada uno de los loci que se utilizarán, asegurándose que cumplan con los presupuestos de neutralidad y no ligamiento.

A partir del conocimiento previo que existe tanto sobre la especie como en relación a otras especies de ungulados nos planteamos la siguiente hipótesis principal:

H<sub>1</sub>: La población mantiene niveles de variabilidad genética que le permiten mantener la viabilidad a largo plazo.

Complementariamente se proponen las siguientes hipótesis secundarias:

H<sub>2</sub>: La población Los Ajos sufrió un cuello de botella reciente.

H<sub>3</sub>: Los grupos observados se componen de individuos emparentados.

H<sub>4</sub>: Hay estructuración genética dentro de la especie.

## 4.2 Objetivos

### 4.2.1 Objetivo general

Analizar la estructura genética de la población Los Ajos de venado de campo con un set de loci de microsatélites.

### 4.2.2 Objetivos específicos

Caracterizar un set de microsatélites en la especie *Ozotoceros bezoarticus*, suficientemente polimórfico para utilizar en el análisis genético de la población Los Ajos.

Establecer el grado de variabilidad genética en la población de venado de campo Los Ajos.

Definir el número efectivo de la población.

Determinar la existencia de individuos emparentados entre los miembros que conforman los grupos observados.

Explorar el grado de variabilidad genética en otras poblaciones de venado de campo.

## 4.3 Material & Métodos

### 4.3.1 Muestras utilizadas

Las muestras utilizadas en esta tesis fueron colectadas entre 1990 y 2009, provienen de seis poblaciones silvestres de venado de campo: Los Ajos (N= 50, Uruguay), El Tapado (N= 18, Uruguay), Emas (N= 5, Brasil), Pantanal (N= 7, Brasil), Bahía de Samborombón (N= 5, Argentina) y San Luis (N= 16, Argentina). También se utilizaron como control, ejemplares de la Estación de Cría de Pan de Azúcar (N= 8), población fundada a partir de 40 individuos de la población uruguaya El Tapado. En la Tabla 4.1 se detalla el origen de las muestras y colector. En el caso de muestras colectadas por metodologías no invasivas incluyen restos de carcazas de animales encontrados muertos en el campo, fecas y pelos. El método de colecta invasivo consistió en captura del ejemplar y extracción de sangre. Los detalles de la captura se describen en el capítulo 3.

Las extracciones de ADN de tejidos, pelos y sangre, se realizaron siguiendo el protocolo de Medrano (1990) con modificaciones (González *et al.* 1998). Las extracciones de ADN a partir de fecas se realizó con el DNeasy® Tissue Kit (QIAGEN) siguiendo las indicaciones del fabricante.

**Tabla 4.1:** Detalle de las muestras utilizadas en este trabajo, se detalla el método de colecta y colector.

| Población                | Muestras no invasivas (N) | Colector             | Muestras invasivas (N) | Colector                     |
|--------------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------|
| Los Ajos (50)            | 34                        | Dr. Susana González  | 16                     | Dr. Mauricio Barbanti Duarte |
| El Tapado (18)           | 18                        | Dra. Susana González |                        |                              |
| Pan de Azúcar (8)        | 8                         | Solana González      |                        |                              |
| Bahía de Samborombón (5) | 1                         | Dr. Mariano Merino   | 4                      | Dra. Marcela Uhart           |
| San Luis (16)            | 16                        | Dr. Mariano Merino   |                        |                              |
| Pantanal (7)             |                           |                      | 7                      | Dr. Mauricio Barbanti Duarte |
| Emas (5)                 |                           |                      | 5                      | Dr. Mauricio Barbanti Duarte |

#### 4.3.2 Determinación de un set de loci polimórficos

##### 4.3.2.1 *Selección de loci*

Se realizó una búsqueda bibliográfica para detectar cebadores de loci de microsatélites desarrollados para especies de bóvidos, ovinos, caprinos y cérvidos, utilizados con éxito en diferentes especies de ciervos. Se analizaron 245 loci, descritos en diversas publicaciones (Beja-Pereira *et al.* 2004; Côté *et al.* 2002; Galan *et al.* 2003; Gaur *et al.* 2003; Kuehn *et al.* 1996; Slate *et al.* 1998). De este listado original se seleccionaron 15 loci en función del número de especies en que se obtuvieron amplificaciones y el grado de polimorfismo obtenido (Apéndice 4.1).

Para los 15 loci seleccionados se adquirieron cebadores. Los cebadores derechos (*forward*) fueron desarrollados con una cola de 18 pb de secuencia en el extremo 5' que permite la adición de fluorescencia en el PCR (*Polymerase Chain Reaction*) cuando se incluye un cebador universal M13 (Schuelke 2000).

Los 15 cebadores seleccionados fueron testeados en tres muestras de venado de campo, pertenecientes a diferentes poblaciones (Los Ajos, Pantanal y San Luis), en reacciones simples de un locus por PCR. Los fragmentos fueron marcados con fluorescencia según Schuelke (2000), utilizando en el PCR tres cebadores: un cebador *forward* con una región complementaria a la que flanquea el microsatélite en cuestión, más una cola de M13 (-21) en el extremo 5'; un cebador *reverse* secuencia específica del extremo 3' del microsatélite; y el cebador universal M13 (5'[6-FAM]TGTAACGGCCAGT-3').

Se utilizó un volumen de reacción de 20 µL, conteniendo 50 ng de ADN, 5 pmol del cebador *forward* con la secuencia M13 (-21), 20 pmol del cebador universal M13 (-21), 20 pmol del cebador *reverse* específico, Buffer Taq 1x con KCl, 3.25 mmol de MgCl<sub>2</sub>, 0.5 µg/µL de BSA, 2mM de dNTP y 1.25 unidades de Taq polimerasa (Fermentas). Las condiciones de termociclado consistieron en dos etapas diferentes; los primeros ciclos permitían que se incorporara el cebador *forward*; se eligió una única temperatura de hibridación para todos los cebadores, la segunda etapa permitía la incorporación del cebador M13. Los detalles del ciclado se describen en la Tabla 4.2.

**Tabla 4.2:** Detalle de las condiciones de ciclado para la amplificación de microsatélites en venado de campo, utilizando el cebador universal con fluorescencia M13.

| Temperatura | Tiempo  | Ciclos |
|-------------|---------|--------|
| 94°C        | 5 min.  | 1      |
| 94°C        | 30 seg. | 29     |
| 56°C        | 45 seg. |        |
| 72°C        | 45 seg. |        |
| 94°C        | 30 seg. | 9      |
| 53°C        | 45 seg. |        |
| 72°C        | 45 seg. |        |
| 72°C        | 10 min. | 1      |

Para confirmar la amplificación se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% (Invitrogen), donde se corrieron 5 µL de cada uno de los productos del PCR. La corrida se extendió por 180 min a 100 V y 50 mA, se incluyó una escalera de ADN de 50 pb O<sup>3</sup>GeneRuler (Fermentas). Un µL del producto del PCR fue agregado a 9 µL de solución formamida/ROX (Applied Biosystems), que fue corrido y detectado en un ABI PRISM 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems). La migración se realizó en un microcapilar de 22 cm de largo usando el polímero POP4 (Applied Biosystems) con los siguientes parámetros: 15 kV, 100 A, and 11mW a 60°C por 35 min. El análisis del tamaño de los fragmentos se realizó utilizando los programas GENESCAN® y GENOTYPER® (Applied Biosystems), en el *Center for Conservation and Evolutionary Genetics –Smithsonian Conservation Biology Institute, National Zoological Park*.

#### 4.3.2.2 Patrón de amplificación de los loci seleccionados

En función del patrón de amplificación observado se seleccionó un set de loci de microsatélites. Estos loci fueron utilizados sobre 69 muestras de ADN de venado de campo provenientes de seis poblaciones que cubren todo el rango de distribución de la especie. Las muestras fueron genotipadas utilizando Genotyper® (Applied Biosystems).

Seleccionamos una muestra con genotipo homocigota para cada uno de los loci, que fue secuenciado. La secuencia obtenida se comparó con la secuencia del mismo locus en la especie para la cual fue desarrollado, tomada del GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

#### 4.3.3 Análisis de distintas poblaciones de venado de campo

##### 4.3.3.1 Obtención de fragmentos de microsatélites y genotipificación

A partir de cinco marcadores seleccionados se adquirieron cebadores derechos marcados con fluorocromos según Tabla 4.3.

**Tabla 4.3:** Detalle de la secuencia de los cebadores utilizados, temperatura de anidamiento (T°A) para cada uno y temperatura promedio (T°A Prom), el tamaño (pb), el flourocromo incluido y el color que emite.

| Loci   | Cebador derecho          | T°A | Cebador reverso          | T°A | T°A.<br>Prom | Tam     | Fluor | Color |
|--------|--------------------------|-----|--------------------------|-----|--------------|---------|-------|-------|
| BM1818 | AGCTGGGAATATAACCAAAGG    | 55  | AGTGCTTTCAAGGTCCATGC     | 55  | 55           | 251-279 | FAM   | Azul  |
| CSSM41 | AATTTCAAAGAACCGTTACACAGC | 61  | AAGGGACTTGCAGGGACTAAAACA | 65  | 63           | 117-203 | JOE   | Verde |
| BM203  | GGGTGTGACATTTTGTTC       | 55  | CTGCTCGCCACTAGTCCTTC     | 59  | 57           | 241-265 | JOE   | Verde |
| BM757  | TGGAAACAATGTAACCTGGG     | 55  | TTGAGCCACCAAGGAACC       | 51  | 53           | 195-227 | FAM   | Azul  |
| INRA40 | TCAGTCTCCAGGAGAGAAAAC    | 57  | CTCTGCCCTGGGGATGATTG     | 59  | 58           | 165-197 | NED   | Negro |

Se desarrollaron dos multiplex para amplificar dos y tres loci en cada reacción de PCR, la elección de los conjuntos de loci por multiplex se basó en las temperaturas de anidamiento de los cebadores (las más similares posibles), los tamaños esperados de los productos lo menos solapados y que presenten diferencias en el fluorocromo. La combinación de estos aspectos permite asignar con relativa facilidad el fragmento observado a un locus determinado. El primer multiplex (a) amplifica los microsatélites BM1818 y CSSM41; el segundo (b) amplifica BM203, BM757 e INRA40.

Cada multiplex consistió en un volumen de reacción de 10  $\mu$ L, conteniendo 25 ng de ADN, 20 pmol de cada cebador (donde los cebadores derechos estaban marcados con distintos fluorocromos), Buffer Taq 1x con KCl, 3.25 mmol de  $MgCl_2$ , 0,5  $\mu$ g/ $\mu$ L de BSA, 2mM de dNTP y 1,25 unidades de Taq polimerasa (Fermentas). Las condiciones de termociclado se detallan en la tabla 4.4.

**Tabla 4.4:** Detalle de las condiciones de ciclado para cada uno de los multiplex realizados. Se estableció diferente temperatura para la etapa de unión de los cebadores. Multiplex 1 58°C y Multiplex 2 56°C.

| Temperatura | Tiempo  | Ciclos |
|-------------|---------|--------|
| 94°C        | 5 min.  | 1      |
| 94°C        | 30 seg. | 35     |
| 58°C o 56°C | 45 seg. |        |
| 72°C        | 45 seg. |        |
| 72°C        | 10 min. | 1      |

Todas las muestras, pertenecientes a siete poblaciones, fueron procesadas en el laboratorio de Biología de la Conservación (IIBCE), los productos de PCR se corrieron en las plataformas de tres laboratorios: i) *Center for Conservation and Evolutionary Genetics –Smithsonian Conservation Biology Institute, National Zoological Park*; ii) Unidad de Biología Molecular del Instituto Pasteur de Montevideo; iii) Macrogen, Korea. En todos los casos se incluyeron réplicas de corridas previas para confirmar el estándar de tamaño molecular.

#### 4.3.4 Composición genética de los grupos

Se analizó el grado de parentesco entre individuos monitoreados con radio collares, así como de otros no identificados que se observaron conformando grupos, de ejemplares de la población Los Ajos (muestras de fecas).

La matriz de alelos de la población Los Ajos se conformó solamente con individuos para los que se tenía información de los cinco loci, más individuos cuyo ADN se obtuvo a partir de fecas (en este caso se incorporaron los individuos con por lo menos tres loci).

#### 4.3.5 Métodos de genética de poblaciones

A continuación se describe la metodología utilizada para el análisis de una matriz de genotipos de microsatélites dada. Los análisis realizados se organizan en cuatro grupos: i) los destinados a estimar el poder de análisis de un set de loci seleccionados para una especie, ii) los análisis que nos son útiles para caracterizar una población dada, iii) aquellos que funcionan como herramientas para establecer relaciones de parentesco entre

individuos de una población y iv) los que nos interesan para hacer comparaciones entre poblaciones.

#### 4.3.5.1 *Equilibrio de Hardy-Weinberg*

La ley del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) es la base de las teorías evolutivas y de la genética de poblaciones. Establece que en una población ideal, sin fuerzas evolutivas actuando, las frecuencias génicas y genotípicas se mantendrán constantes de generación a generación y se relacionarán, para un locus con dos alelos (A y a), según:

$$p^2 + 2pq + q^2 \quad (4.1)$$

Donde  $p$  y  $q$  son las frecuencias de los alelos A y a en la población. El análisis del equilibrio de H-W sirve como hipótesis nula, para la comprensión de los procesos que afectan a una población real sometida a diferentes fuerzas evolutivas.

Es entonces necesario que el marcador genético utilizado para analizar genéticamente una población, sea neutro desde el punto de vista evolutivo. Esto es, que no esté bajo presión de selección. Cada uno de los loci utilizados en este trabajo, fue evaluado para estimar la probabilidad de que se encontrara en equilibrio de H-W. Para un locus autosómico con  $m$ -alelos, los arreglos genotípicos dados según la ley de H-W deben ser los siguientes:

$$\sum_i p_i^2 A_i A_i + \sum_{i < j} 2p_i p_j A_i A_j \quad (4.2)$$

donde  $p_i$  es la frecuencia alélica para  $A_i$  y  $p_j$  es la frecuencia alélica para  $A_j$ . Si las frecuencias genotípicas observadas para un locus dado no se

separan con una significación estadística de las esperadas para H-W, se dice que está en equilibrio.

Una vez que se estableció que cada uno de los loci se encuentra en equilibrio de H-W, el conjunto de microsatélites puede ser utilizado para analizar si una población dada está en equilibrio.

Para estimar la probabilidad exacta de H-W se usó el software Genepop (Raymond & Rousset 1995) que utiliza el método de cadenas de Markov descrito por Guo y Thompson (1992). En el caso de observar un apartamiento de H-W, se aplicó la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice 1989).

#### 4.3.5.2 *Errores de genotipado*

Cuando se trabaja con ADN degradado o en baja concentración (como es el caso de colecta de muestras por métodos no invasivos) el genotipado puede acarrear distintos tipos de errores. Los **errores estocásticos** son *pérdida de alelos* y errores en la asignación del genotipo. Los **errores sistemáticos**, en cambio, son aquellos donde han ocurrido mutaciones en el sitio de unión con el cebador, de manera que ciertos alelos no amplifican (*alelos nulos*) generando falsos homocigotos. Se observa en este caso una deficiencia en la frecuencia de heterocigotos, en relación a lo esperado para el equilibrio de H-W. Este fenómeno es similar al que genera el efecto Wahlund, donde la reducción en la frecuencia de heterocigotos se debe a la existencia de varias subpoblaciones agrupadas en una única muestra (Chapuis & Estoup 2007; Oosterhout *et al.* 2004; Selkoe & Toonen 2006). Selkoe & Toonen (2006) reportan que en un 84% de

los artículos publicados sobre microsatélites, existe evidencia sobre alelos nulos.

Para la evaluación de errores en la asignación de genotipos, pérdida de alelos y presencia de alelos nulos se utilizó el software Micro-checker 2.2.3 (Oosterhout *et al.* 2004). Este programa estima la probabilidad de cada homocigota observado. La probabilidad para cada clase de alelo homocigoto es calculada utilizando la distribución binomial acumulada (Weir 1996). Los P-valores son también calculados por un ranking de las frecuencias observadas en la distribución al azar de los genotipos. Se identifican entonces las desviaciones del equilibrio de H-W, que serían consistentes con alelos nulos, dominancia de alelos más cortos, errores de asignación de tamaño, y errores asociados con el tartamudeo característico de los microsatellites (*stuttering*).

El error en la asignación de tamaño debido a tartamudeo es sugerido cuando hay una deficiencia de heterocigotos con alelos que difieren en tamaño por una unidad repetida, y con un exceso relativo de homocigotas de mayor tamaño (ya que el tartamudeo es más severo para los alelos de más pares de bases). La presencia de exceso de homocigotas en ambos extremos de la curva de distribución de tamaño, nos indica un proceso de dominancia de alelos de menor tamaño. El programa detecta los alelos nulos si la probabilidad combinada muestra que hay un exceso significativo de homocigotas a nivel global (para las distintas clases alélicas). Si este exceso no tiene una distribución homogénea entre las clases, el patrón no será consistente con el esperado para los alelos nulos

y entonces puede ser determinado como un error de genotipado o debido a un alejamiento de la panmixia (Oosterhout *et al.* 2004).

#### 4.3.5.3 Desequilibrio de ligamiento

Para que cada loci incluido en el análisis aporte información nueva, debemos de confirmar que no existe desequilibrio de ligamiento, o sea que los genotipos presentes en un locus sean independientes de los genotipos en otro locus (Rousset 2008; Weir 1996). El coeficiente de desequilibrio de ligamiento ( $D$ ) analiza la asociación entre genotipos diploides en ambos loci. Para los alelos  $A$  y  $B$  en dos loci, este coeficiente compara la frecuencia gamética ( $p_{AB}$ ) con el producto de las frecuencias alélicas ( $p_A p_B$ ) según:

$$D_{AB} = p_{AB} - p_A p_B \quad (4.3)$$

En el caso de un locus, la Estimación de Máxima Verosimilitud (MLE de sus siglas en inglés) de  $D_{AB}$  se obtiene directamente de las frecuencias observadas según:

$$\hat{D}_{AB} = \tilde{p}_{AB} - \tilde{p}_A \tilde{p}_B \quad (4.4)$$

La probabilidad entre pares de loci, se estimó por medio del test de  $\chi^2$  utilizando el programa Genepop (Rousset 2008). En este caso también se aplicó la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (Rice 1989).

#### 4.3.5.4 Contenido de información polimórfica y probabilidad de no exclusión

El grado de información que nos puede proveer un conjunto de loci de microsatélites dependerá de cuan informativos o polimórficos sean cada uno de los loci incluidos. El polimorfismo de un marcador genético estará dado por el número y la frecuencia de alelos que presente. Botstein *et al.* (1980) desarrollaron un índice de Contenido de Información Polimórfica (PIC). El PIC es definido como la probabilidad de qué se pueda deducir, a partir de un marcador de genotipo de la descendencia, de que parental fueron heredados cada uno de sus alelos (Botstein *et al.* 1980; Guo & Elston 1999).

Para un locus con  $n$ -alelos el valor de PIC se calcula de la siguiente manera:

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2 \quad (4.5)$$

El PIC de cada locus utilizado, así como del conjunto de loci fue estimado utilizando el programa Cervus 3.0 (Kalinowski *et al.* 2007; Marshall *et al.* 1998).

Una vez que los individuos han sido genotipados con un set de marcadores genéticos, es posible estimar relaciones genealógicas entre los ejemplares. La forma más sencilla de determinar el parentesco a partir de datos moleculares es por exclusión. La probabilidad de exclusión de un set de loci de microsatélites dependerá de la frecuencia genotípica esperada para un haplotipo parental único. La frecuencia genotípica esperada para

cada locus, estará dada por el número de alelos y su frecuencia. De esta manera, cualquier candidato a ser un parental, que presente un genotipo incompatible con el genotipo de la descendencia analizada (en base a las leyes de Mendel) es excluido como posible progenitor. La precisión de este análisis se basa en el número de loci, su grado de heterocigosidad y la frecuencia de sus alelos (Hamilton 2009; Kalinowski *et al.* 2007).

#### 4.3.5.5 *Endogamia y estructuración poblacional*

El coeficiente de endogamia ( $F$ ) es la probabilidad de que dos alelos homólogos en un individuo, sean idénticos por descendencia. Los estadísticos  $F$  fueron desarrollados por Wright (1921; 1931; 1951) y permiten estimar la existencia de estructuración poblacional en el rango de distribución de la especie. Hay tres estadísticos  $F$  ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ , y  $F_{ST}$ )<sup>7</sup>.  $F_{IS}$  mide el grado de endogamia en una población dada, esto es que exista un exceso de homocigotas en relación a lo esperado para el equilibrio de Hardy-Weinberg.  $F_{IS}$  toma valores que van de 0 (sin endogamia) a 1 (endogamia total), cuando toma valores negativos, corresponde a un exceso heterocigotos (exogamia). El  $F_{IT}$  evalúa cuán alejada está una población (global) del equilibrio de Hardy-Weinberg mientras que el  $F_{ST}$  estima la divergencia en las frecuencias alélicas entre los demos (índice de fijación).  $F_{ST}$  toma valores positivos que van desde 0 (sin estructuración poblacional) a 1 (poblaciones totalmente separadas), mientras que valores

---

<sup>7</sup> Los superíndices se refieren a individuo (I), subpoblación (S) y población total (T).

mayores a 0,2 se considera que reflejan una fuerte estructuración. Estos estimadores se definen en función de:

$$F_{IS} = \frac{(H_s - H_i)}{H_s} \quad (4.6)$$

$$F_{IT} = \frac{(H_t - H_i)}{H_t} \quad (4.7)$$

$$F_{ST} = \frac{(H_t - H_s)}{H_t} \quad (4.8)$$

Donde  $H_i$  es la heterocigosidad promedio **observada** entre subpoblaciones,  $H_s$  es la heterocigosidad promedio **esperada** entre subpoblaciones, y  $H_t$  representa la heterocigosidad esperada en la población total. Los estimadores F fueron definidos por Wright para genes con dos alelos, Nei (1977) fue el responsable de extenderlos para tres o más alelos denominándolos  $G_{IS}$ ,  $G_{IT}$ , y  $G_{ST}$ , aunque en la actualidad los términos son intercambiables (Allendorf & Luikart 2007; Beebee & Rowe 2008). Para el modelo evolutivo de Mutación de un Paso (SMM) se calculan los estadísticos Rho en base a la covarianza del tamaño de los alelos (Michalakis & Excoffier 1996). Mientras que bajo el supuesto de Alelos Infinitos (IAM) se utiliza el método basado en el análisis de varianza para los estimativos F, desarrollado por Weir and Cockerham (1984).

El grado de sub-estructuración también puede ser estimado por el método Bayesiano de clústeres, utilizando el programa STRUCTURE 2.1 (Pritchard *et al.* 2000). Con esta metodología se puede inferir la existencia de sub-estructuración poblacional, determinando el número de grupos (K) que pudieran observarse sin ninguna asunción previa de agrupamiento de los

individuos. Para ello corrimos el programa bajo el supuesto de distinto grado de sub-estructuración ( $K: 1 - 10$ ), con cinco réplicas, *burning*: 10000 y ciclos de Montecarlo de las cadenas de Markov (MCMC): 200000. El programa STRUCTURE, calcula el logaritmo de la máxima verosimilitud de los datos ( $\ln P(X|K)$ ), para cada valor de  $K$ . Una vez finalizado el análisis se graficó la media y desvío estándar de  $\ln P(X|K)$  categorizados por  $K$ . Se elige el nivel de sub-estructuración (número de clusters  $K$ ) en función del que presenta la media del logaritmo de máxima verosimilitud mayor, junto con el menor desvío estándar.

Este método asume que existe equilibrio de H-W intrapoblacional, este pre-supuesto es necesario para poder utilizar las frecuencias alélicas observadas para computar la probabilidad de origen de un genotipo dado a una población determinada (Manel *et al.* 2002). Desviaciones del equilibrio de H-W pueden generar sesgos en la asignación. Cornuet *et al.* (1999) estimaron que la simulación a partir de poblaciones con leves desvíos del equilibrio no afecta de manera importante la eficiencia de este programa en la estimación de estructuración poblacional.

Para analizar las relaciones entre los individuos de diferentes poblaciones se realizó un Análisis Factorial de Correspondencia (AFC), mediante el programa GENETIX 4.5 (Belkhir *et al.* 2004). Este análisis reduce el número de variables a unas pocas, de este modo se pueden extraer factores que determinan la estructura de los datos. Los individuos analizados se graficaron mediante vectores.

#### 4.3.5.6 *Número efectivo de la población*

El número efectivo de la población ( $N_e$ ) fue estimado con el programa LDNE (Waples & Do 2010; Waples & Do 2008) que se basa en el desequilibrio de ligamiento de las frecuencias alélicas en la población, según:

$$\hat{N}_e = \frac{1}{3(\hat{r}^2 - 1/S)} \quad (4.9)$$

Donde  $\hat{r}^2$  es un estimador del cuadrado de la correlación de las frecuencias alélicas para cada par de loci y  $S$  corresponde al número de individuos utilizado en el análisis genético, para el desarrollo de esta fórmula ver Waples & Do (2010). Este análisis permite evaluar el sesgo de los alelos que se encuentran en baja frecuencia. Para ello el estimador  $\hat{r}^2$  se computa de manera independiente, excluyendo aquellos alelos que se encuentran por debajo de una frecuencia dada (por ejemplo 0,05; 0,02; 0,01).

#### 4.3.5.7 *Análisis de procesos de cuello de botella*

El análisis de procesos de cuello de botella reciente se realizó usando el programa BOTTLENECK versión 1.2.0.2 (Cornuet & Luikart 1996). Una población que sufrió un cuello de botella reciente experimenta una reducción tanto en el número como en la heterocigosidad de loci polimórficos, pero el número de alelos se reduce más rápidamente que la heterocigosidad (Luikart *et al.* 1998). Es así que se espera observar un exceso de la heterocigosidad en relación a lo esperado en el equilibrio de H-W, dejando vacíos en la distribución de alelos de la población (Hajji *et al.* 2007). En

el análisis incluimos tres modelos de evolución de microsatélites, de alelos infinitos (IAM), modelo de mutación de un paso (SMM) y el de dos fases (TPM). Para este análisis se utilizaron las muestras obtenidas a partir del año 2000, ya que en el estudio demográfico se observó una reducción poblacional entre 1996–1998.

#### 4.3.5.8 *Número de migrantes*

La migración tiende a homogeneizar la constitución genética entre los demos, es así que el número promedio de migrantes con éxito reproductivo ( $N_m$ ) entre dos subpoblaciones puede ser derivado del  $F_{ST}$  en función de la siguiente ecuación:

$$N_m = \frac{1}{4} \left( \frac{1}{F_{ST}} - 1 \right) \quad (4.10)$$

Los estadísticos  $F$ , el número de migrantes y la heterocigocidad, fueron evaluados con el programa GENEPOP 4.0.10 (Raymond & Rousset 1995; Rousset 2008; Rousset 2009), y FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 1995), el programa GENEPOP 4.0.10 usa una estimación del número de migrantes por el método de alelos privados (Barton & Slatkin 1986).

#### 4.3.5.9 *Análisis de parentesco*

Para el análisis de probabilidad de distintos tipos de parentesco se utilizó el coeficiente de parentesco  $r$  que se basa en la probabilidad ( $k$ ) de que dos individuos de una población compartan alelos idénticos por descendencia. Es así que el valor de  $k$  para un alelo en el par padre–hijo es igual a 1; entre hermanos  $k = 0,5$ , y entre primos hermanos es de 0,25, el valor de  $r$  se relaciona con  $k$  según:

$$r = \frac{1}{2}k_1 + k_2 \quad (4.11)$$

Para este análisis se utilizó el programa ML-Relate (Kalinowski *et al.* 2006) que nos permitió obtener un estimativo de máxima verosimilitud para el coeficiente de parentesco (*relatedness*),  $r$ , para cada par de venados.

Utilizando la máxima verosimilitud, determinamos el tipo de relacionamiento más probable entre cuatro categorías: padre-hijo (PO), hermanos (FS), medio hermanos (HS), o no relacionados (U). Como control de este análisis se utilizó un par de venados de la Estación de Cría de Pan de Azúcar que son medio hermanos.

## 4.4 Resultados

### 4.4.1 Caracterización de un set de loci polimórficos

El patrón de amplificación en tres individuos, de los 15 cebadores testeados, fue consistente para cinco loci (Tabla 4.5). El locus TGLA10 resultó ser (en el conjunto mayor de muestras) monomórfico, y se descarta para posteriores amplificaciones.

Las secuencias obtenidas para cada locus de microsatélite, en individuos de venado de campo homocigotos, fueron enviadas al GenBank (números de acceso EF571647-EF571651). En el Apéndice 4.2 se muestra el alineamiento de las secuencias para cada locus en venado y ganado. Solamente el locus BM1818 presentó mutaciones a nivel del sitio de unión con los cebadores.

**Tabla 4.5:** Lista de los loci testeados con los alelos observados en los tres individuos analizados.

| Locus | M13     | SP56    | SG94    | SG126   | Alelos | Comentario                                     |
|-------|---------|---------|---------|---------|--------|--|
| 1     | BM1818  | 158/162 | 264/264 | 262/262 | 3      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 2     | BM203   | 243/247 | 257/257 | 253/257 | 4      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 3     | BM4513  | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 4     | BM757   | 207/219 | 199/199 | 199/207 | 3      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 5     | CSSM41  | NA      | 147/153 | 153/153 | 2      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 6     | CSSM43  | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 7     | ETH225  | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 8     | HUJI75  | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 9     | INRA05  | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 10    | INRA40  | 178/184 | 168/168 | 168/168 | 3      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 11    | OarVH98 | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 12    | SR12    | NA      | NA      | NA      |        | No se observa un patrón de amplificación claro |
| 13    | SR24    | 155/155 | 155/155 | 155/155 | 1      | Buen patrón de amplificación, monomórfico      |
| 14    | TGLA10  | 134/136 | 136/138 | 118/132 | 4      | Buen patrón de amplificación, polimórfico      |
| 15    | TGLA378 | 176/176 | 176/176 | 176/176 | 1      | Buen patrón de amplificación, monomórfico      |

La caracterización de cinco loci fue realizada a partir de 69 muestras de cinco poblaciones, la información de los genotipos obtenidos para este análisis se muestra en el Apéndice 4.3. El análisis de errores en el genotipado de estos cinco microsatelites mostró que solamente uno (BM 1818), presentaba alelos nulos (Tabla 4.6).

**Tabla 4.6:** Resultado del análisis de errores de genotipado, se detalla el locus, la presencia de alelos nulos y la frecuencia estimada según las distintas aproximaciones.

| Locus  | Presencia de alelos nulos |             |              |              |        |
|--------|---------------------------|-------------|--------------|--------------|--------|
|        | Oosterhout                | Chakraborty | Brookfield 1 | Brookfield 2 |        |
| BM1818 | si                        | 0,1347      | 0,1584       | 0,126        | 0,3415 |
| CSSM41 | no                        | 0,0191      | 0,0358       | 0,0288       | 0,2488 |
| BM203  | no                        | -0,1513     | -0,1133      | -0,109       | 0,1436 |
| BM757  | no                        | 0,0133      | 0,0177       | 0,0159       | 0,1775 |
| INRA40 | no                        | -0,0036     | 0,0225       | 0,0154       | 0,3067 |

La corrección de los genotipos para el locus BM1818 considerando los alelos nulos se presenta en el Apéndice 4.4. Una vez corregida la frecuencia de BM1818 para alelos nulos, solamente este locus presentó un leve desvío en equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 4.7).

**Tabla 4.7:** Valores del análisis de  $\chi^2$  para lo esperado en Equilibrio de Hardy-Weinberg.

| Locus  | $\chi^2$ | GL | Prob.  |
|--------|----------|----|--------|
| BM1818 | 24,6787  | 12 | 0,0164 |
| CSSM41 | 16,7386  | 12 | 0,1597 |
| BM203  | 9,8506   | 12 | 0,6291 |
| BM757  | 11,5625  | 12 | 0,4814 |
| INRA40 | 16,9737  | 12 | 0,1506 |

El análisis de desequilibrio de ligamiento entre pares de loci no relevó resultados estadísticamente significativos usando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. De manera que se concluye que los microsatélites seleccionados pueden considerarse como independientes.

La diversidad alélica encontrada presentó un rango entre 13 a 20 alelos por locus (Tabla 4.8). La diversidad alélica promedio fue de 14,8 alelos/locus.

La heterocigosidad esperada incluyendo todos los loci fue de 0,869 y el valor medio de PIC fue de 0,847. La probabilidad de no exclusión de paternidad incluyendo todos los loci fue de NE-1P = 0,0133 y NE-2P = 0,0013. La probabilidad combinada de no-exclusión  $P_{(ID)}$  fue de  $3 \times 10^{-8}$ .

**Tabla 4.8:** Diversidad alélica y contenido de información polimórfica observada. K: número de alelos detectados; N: número de individuos analizados; H. Obs: Heterocigosidad observada; H. Exp: Heterocigosidad esperada; PIC: Contenido de Información Polimórfica; NE-1P: probabilidad de no exclusión para el primer parental; NE-2P: probabilidad de no exclusión para el segundo parental.

| Locus  | k  | N  | H.Obs | H.Exp | PIC   | NE-1P | NE-2P |
|--------|----|----|-------|-------|-------|-------|-------|
| BM1818 | 13 | 50 | 0,620 | 0,886 | 0,865 | 0,397 | 0,247 |
| BM203  | 13 | 61 | 0,885 | 0,871 | 0,849 | 0,429 | 0,271 |
| BM757  | 15 | 57 | 0,877 | 0,904 | 0,887 | 0,347 | 0,209 |
| CSSM41 | 20 | 53 | 0,604 | 0,869 | 0,848 | 0,425 | 0,269 |
| INRA40 | 14 | 55 | 0,527 | 0,815 | 0,786 | 0,531 | 0,359 |

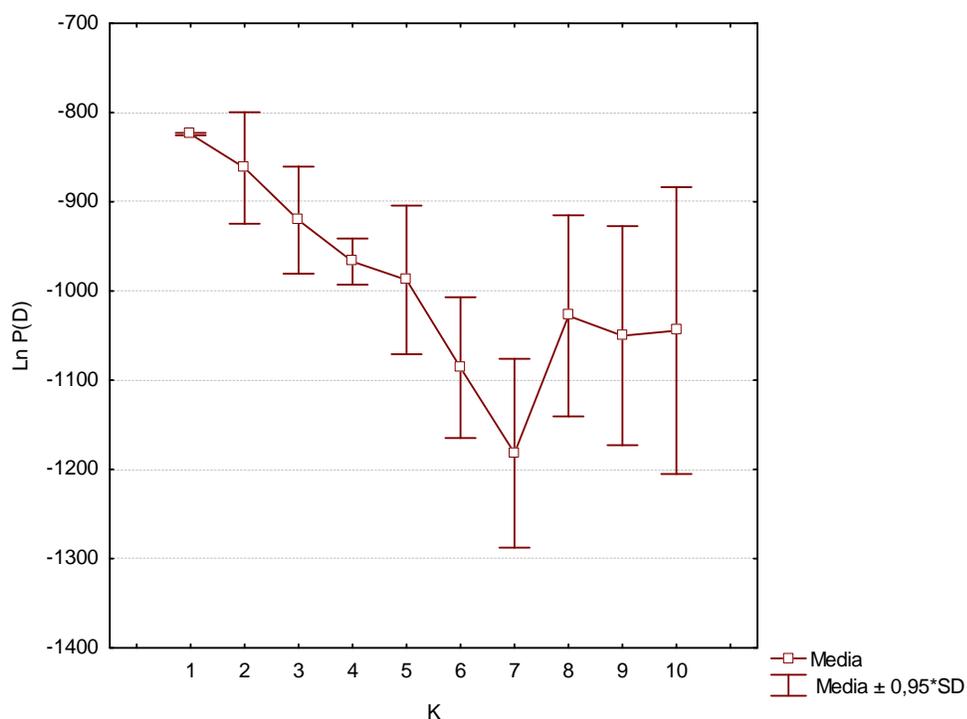
#### 4.4.2 Estructura genética de *O.b.uruguayensis*

La población Los Ajos presenta una probabilidad estadísticamente significativa de no encontrarse en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$ : 54,70; GL: 10;  $P < 0,0000$ ). El valor de endogamia bajo el modelo IAM ( $F_{is}$ ) fue de 0,062 con valores de diversidad intra individual (“1-Qintra”) de 0,75 y entre individuos (“1-Qinter”) de 0,81.

El  $N_e$  estimado para esta población fue 63 (simulando un apareamiento al azar; exclusión de alelos con una frecuencia  $< 0,01$ ; con un intervalo de confianza de 95% = 37–157 individuos).

No obtuvimos diferencias significativas en la heterocigosidad observada, bajo la hipótesis de equilibrio de mutación–deriva tanto para el modelo de IAM, TPM como para el de SMM; de manera que no observamos en el análisis de microsatélites un exceso de heterocigosidad como el esperado bajo un proceso de cuello de botella reciente.

Los resultados del análisis de sub–estructuración en la población Los Ajos nos muestra que no estaríamos frente a un proceso de este tipo. El valor de número de clusters con mayor valor de máxima verosimilitud y menor desvío estandar fue  $K = 1$  (Figura 4.1).



**Figura 4.1:** Gráfica con los valores medios del LnP(D) y el desvío estándar obtenido para cinco réplicas de distintos modelos de clusters (K), obtenidos con el programa STRUCTURE.

#### 4.4.3 Composición genética de los grupos

Para la matriz de individuos de la población Los Ajos, con cinco loci representados (N = 53), obtuvimos un grado importante de diversidad alélica (Tabla 4.9)

El análisis de parentesco entre dos ejemplares de venado de la Reserva de Cría de Pan de Azúcar, fue significativo para el grado de parentesco de medios hermanos y de hermanos. Los individuos analizados comparten un parental. Estos resultados, junto con el nivel de heterocigosidad

esperada para el conjunto de loci (0,869) y el alto valor medio de PIC (0,847) así como la probabilidad significativa de no exclusión, indican que el set de microsatélites es informativo para este tipo de análisis, con suficiente poder para no caer en errores de tipo II.

**Tabla 4.9:** Número de alelos hallados en los individuos de la población Los Ajos. Se incluyeron únicamente los individuos con cinco loci más los provenientes de fecas con más de tres loci, (N= 53).

| Locus  | N Alelos |
|--------|----------|
| BM1818 | 11       |
| BM203  | 14       |
| BM757  | 16       |
| CSSM41 | 20       |
| INRA41 | 17       |

La estimación media del parentesco ( $r$ ) para todo el grupo de ejemplares cuyas muestras fueron colectadas en el mismo momento (N=16) (sin incluir aquellas muestras provenientes de fecas) fue de 0,09 con un desvío estándar de 0,15. La media de parentesco entre ejemplares machos fue de 0,04; DS: 0,09; mientras que entre las hembras fue de 0,1; DS: 0,14.

Analizamos también la media de parentesco para los machos con radiocollares con todos los individuos capturados (Tabla 4.10), se observan diferencias importantes entre los ejemplares.

**Tabla 4.10:** Se detalla la media y el desvío estándar (DS), de parentesco ( $r$ ) de cada macho monitoreado en relación a todos los ejemplares capturados.

| Nombre | Lula  | Edu   | Brad Pitt | Galloper | Tiburón |
|--------|-------|-------|-----------|----------|---------|
| Número | SG124 | SG125 | SG126     | SG129    | SG130   |
| Media  | 0,06  | 0,17  | 0,08      | 0,08     | 0,01    |
| DS     | 0,10  | 0,19  | 0,16      | 0,11     | 0,03    |

Los individuos monitoreados que mostraron un grado importante de solapamiento espacial fueron dos grupos: 1) SG126(♂); SG127(♀); SG133(♀) y 2) SG129(♂); SG131(♀); SG132(♀). Cuando analizamos el grado de parentesco ( $r$ ) entre estos individuos, se observa en ambos casos un índice menor entre el macho y las hembras del grupo, que entre hembras (Tabla 4.11).

**Tabla 4.11:** Matriz de individuos monitoreados, con solapamiento entre sus ámbito hogar, se observan dos grupos (verde y azul), se detalla el valor del índice de parentesco ( $r$ ).

|           |       | BRAD PITT | SUSANITA | GALLOPER | ANA CLARA | SOL   | JULIA |
|-----------|-------|-----------|----------|----------|-----------|-------|-------|
|           |       | SG126     | SG127    | SG129    | SG131     | SG132 | SG133 |
| BRAD PITT | SG126 | 1         |          |          |           |       |       |
| SUSANITA  | SG127 | 0         | 1        |          |           |       |       |
| ANA CLARA | SG131 | 0,27      | 0        | 0        | 1         |       |       |
| SOL       | SG132 | 0,13      | 0        | 0,04     | 0,20      | 1     |       |
| JULIA     | SG133 | 0         | 0,12     | 0        | 0,25      | 0     | 1     |

A partir de ADN extraído de 16 fecas, se pudieron obtener un total de 46 alelos para los cinco loci (57%). Para estas muestras la media del índice de relacionamiento ( $r$ ) fue mayor entre muestras pertenecientes a fecas ( $\hat{X} = 0,13$ ; DS = 0,23) que a la media con todos los ejemplares capturados ( $\hat{X} = 0,05$ ; DS = 0,14).

#### 4.4.4 Comparación de diversidad genética con otras poblaciones

El análisis de equilibrio de Hardy–Weinberg estableció que las poblaciones de Emas, Pantanal, El Tapado y Bahía de Samborombón, estarían en equilibrio, mientras que Los Ajos y San Luis presentan una probabilidad estadísticamente significativa de no estar en equilibrio ( $p < 0,0001$ ). Estas poblaciones no presentan un índice de endogamia importante. El mayor nivel de endogamia es para la población de Bahía de Samborombón (Tabla 4.12).

**Tabla 4.12:** Test de  $\chi^2$  para cada una de las poblaciones analizadas, se detalla el número de individuos incluidos en este análisis, el valor de  $\chi^2$ , los grados de libertad (GL) y el valor de probabilidad. Coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) según la varianza de la identidad alélica, se detalla la variabilidad intra e inter individual: 1-Qintra) y 1-Qinter.

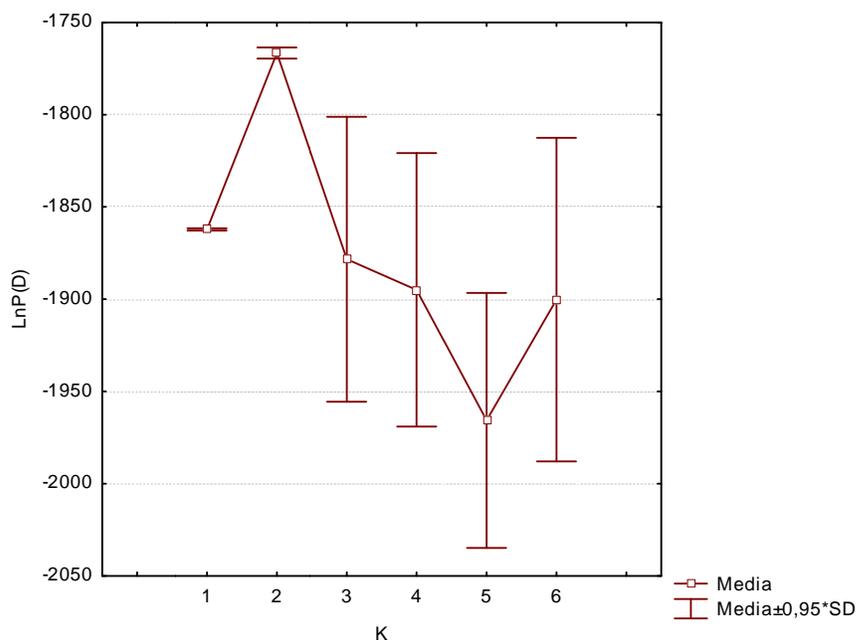
| Población | Emas  | El Tapado | Los Ajos | Pantanal | Bahía de Samborombón | San Luis |
|-----------|-------|-----------|----------|----------|----------------------|----------|
| N         | 5     | 18        | 51       | 7        | 5                    | 16       |
| $\chi^2$  | 14,11 | 15,14     | 55,84    | 9,46     | 8,48                 | 34,79    |
| GL        | 10    | 10        | 10       | 10       | 10                   | 10       |
| P         | 0,17  | 0,13      | 0,0000   | 0,48     | 0,58                 | 0,0001   |
| 1-Qintra  | 0,80  | 0,81      | 0,76     | 0,77     | 0,73                 | 0,80     |
| 1-Qinter  | 0,90  | 0,88      | 0,80     | 0,90     | 0,93                 | 0,87     |
| $F_{IS}$  | 0,12  | 0,07      | 0,04     | 0,14     | 0,21                 | 0,07     |

El grado de sub-estructuración entre estas poblaciones es muy moderado, ya que el valor de  $F_{ST}$  es próximo a 0,05. La endogamia global  $F_{IT}$  es de 0,11 (Apéndice 4.7). Cuando se analiza el  $F_{ST}$  entre pares de poblaciones (Tabla 4.13) vemos una leve diferenciación genética ( $F_{ST} > 0,05$ ) en la población Los Ajos y entre el par de poblaciones Emas-Bahía de Samborombón.

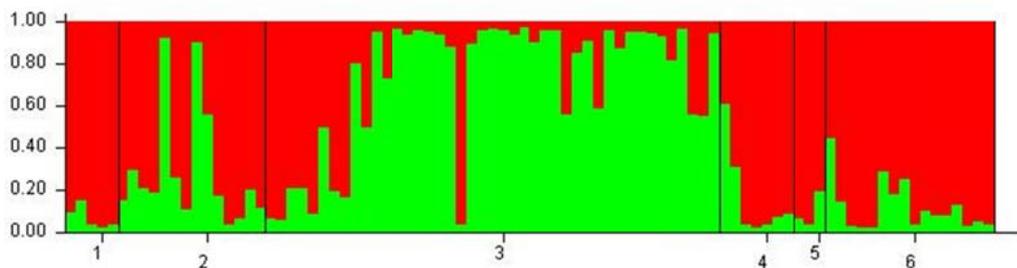
**Tabla 4.13:** Valores de  $F_{ST}$  para pares de poblaciones. En rojo se destacan los valores mayores a 0,05 para el índice de  $F_{ST}$  que indicarían un leve grado de estructuración.

| Población         | Emas          | El Tapado | Los Ajos      | Pantanal | Bahía de Samborombón |
|-------------------|---------------|-----------|---------------|----------|----------------------|
| Emas              |               |           |               |          |                      |
| El Tapado         | 0,0198        |           |               |          |                      |
| Los Ajos          | <b>0,0889</b> | 0,0383    |               |          |                      |
| Pantanal          | 0,0021        | 0,0243    | <b>0,0788</b> |          |                      |
| Bahía Samborombón | <b>0,0591</b> | 0,0240    | <b>0,0779</b> | 0,0309   |                      |
| San Luis          | 0,0308        | 0,0252    | <b>0,0819</b> | 0,0170   | 0,0140               |

El análisis de estructuración por el método Bayesiano nos indica que el número de clústeres que presenta el mayor valor medio para el Log. natural del valor de máxima verosimilitud y menor desvío estándar fue el generado a partir de la simulación de dos grupos (Figura 4.2). Esta estructuración define un grupo que incluye con una mayor probabilidad a los individuos provenientes de la población Los Ajos, y otro grupo con el resto de los individuos (Figura 4.3).

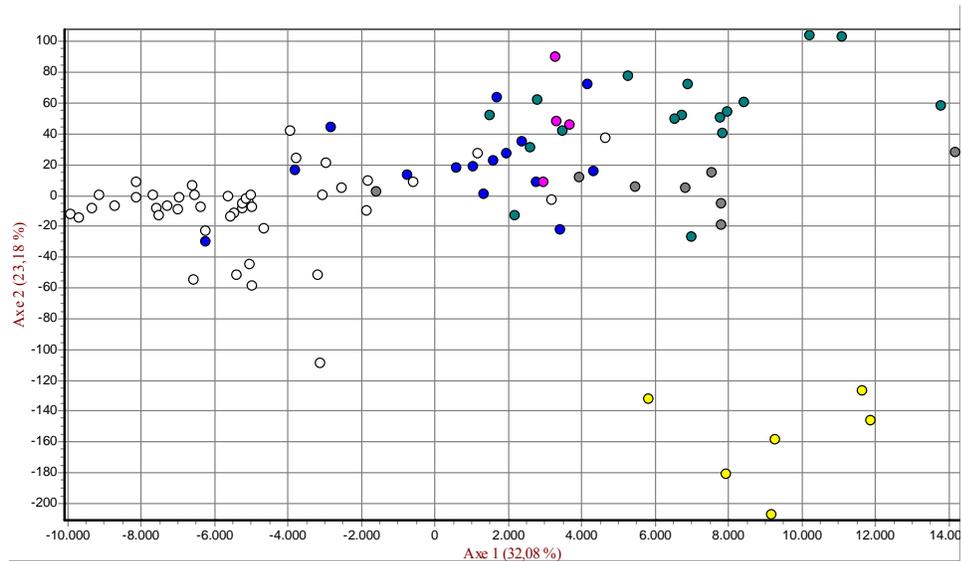


**Figura 4.2:** Gráfica con los valores medios del LnP(D) (máxima verosimilitud) y el desvío estándar obtenido para cinco réplicas de distintos modelos de clusters (K), obtenidos con el programa STRUCTURE.



**Figura 4.3:** Patrón de distribución de la probabilidad de pertenecer a cada uno de los clústeres detectados con el programa STRUCTURE, (en verde clúster 1, y en rojo clúster 2) para cada individuo analizado. Se detalla código de poblaciones: 1: EM; 2: ET; 3: LA; 4: PA; 5: SA; 6: SL.

El grado moderado de diferenciación poblacional se ve reflejado en el AFC en el cual no se discriminan claramente los demos, pero se observa una segregación de la población Los Ajos (Figura 4.4)



**Figura 4.4:** distribución de los individuos de las diferentes poblaciones en relación a los vectores 1 y 2 generados con el Análisis Factorial de Correspondencia. Referencias: Los Ajos (blanco); El Tapado (azul); Pantanal (gris); Emas (amarillo); Bahía de Samborombón (rosa); San Luis (verde).

#### 4.4.5 Número de migrantes

El número de migrantes para un tamaño medio de muestra (por población) de 13 individuos, con una frecuencia media de alelos privados de 0,07 fue de 2,33 migrantes por generación.

## 4.5 Discusión

### 4.5.1 Caracterización de un set de loci polimórficos

Los cinco microsatélites seleccionados tienen una alta probabilidad de no exclusión que permiten ser utilizados para identificación individual y asignación de parentesco con un alto nivel de confianza. A su vez este conjunto de marcadores hipervariables tiene suficiente poder como para permitir analizar la estructura poblacional en venado de campo, hacer inferencias sobre la estructura de los grupos, las estrategias de apareamiento y relación evolutiva entre distintas poblaciones de la especie (Cosse *et al.* 2007). Cuando se trabaja con material colectado por métodos no invasivos, decaen las condiciones tanto cuali como cuantitativas del ADN, de manera que se incrementan las posibilidades de errores de genotipado y dominancia alélica. Se ha observado que a su vez este tipo de errores aumenta a medida que aumenta el número de loci analizados. Es por eso que se busca obtener un conjunto mínimo de marcadores con un buen nivel de diversidad alélica y heterocigosidad (Taberlet *et al.* 1999; Waits *et al.* 2001; Waits & Paetkau 2005).

La combinación con el cebador universal unido a fluorocromo M13 (Schuelke 2000) provee un pequeño set de marcadores genéticos hipervariables que constituyen una herramienta en ecología molecular (a un costo reducido) para resolver problemas relacionados con los programas de manejo del venado de campo. En el caso de la amplificación de microsatélites a partir de fecas, hemos observado que la exposición de la muestra a un ciclo de termociclado con las bajas temperaturas que requiere

el cebador universal M13, genera resultados de difícil interpretación. Mientras que cuando se amplifica con cebadores específicos, la señal obtenida es más clara.

#### 4.5.2 Estructura genética de *O.b.uruguayensis*

Hallamos, para la población Los Ajos, un apartamiento del equilibrio de Hardy-Weinberg, con una alta diversidad intra e inter-individual, con bajos valores de endogamia. Se acepta la hipótesis de que esta población mantiene variabilidad genética. Sin embargo es necesario profundizar en los procesos demográficos para comprender las causas del apartamiento del equilibrio de H-W.

No se observa, con estos marcadores nucleares, un proceso de cuello de botella reciente. Muchas poblaciones silvestres muestran reducción en el tamaño censal (como el observado en esta población entre 1997-1999), que no determina una reducción en el  $N_e$  (cuello de botella genético). No se acepta bajo los resultados obtenidos, la hipótesis de existencia de un proceso de cuello de botella. Pero tampoco podemos descartarlo, ya que la población no se encuentra en equilibrio y es la más diferenciada genéticamente. Se ha observado que una historia de fluctuaciones en el tamaño poblacional determina variaciones en el  $N_e$  a lo largo del tiempo, generando pérdida de señal genética de eventos de cuello de botella junto con un efecto del tipo fundador (Cornuet & Luikart 1996; McEachern *et al.* 2010; Pimm *et al.* 1989).

La evidencia de una reducción en la diversidad genética a nivel de la región de control de ADNmt<sup>8</sup> (1994–1998: 9 ind./7haplotipos; 2002: 14 ind./3 haplotipos (González 2004; González *et al.* 1998), sugieren la necesidad de monitorear, para esta población, la variación en el  $N_e$  a lo largo del tiempo (McEachern *et al.* 2010).

El índice de parentesco global de individuos de la misma cohorte, estableció un bajo nivel de relacionamiento, coherente con los valores cercanos a cero hallados para el valor de  $F_{IS}$  (endogamia) para la población. Los machos analizados presentan un valor medio de parentesco menor que las hembras. Estos resultados concuerdan con los hallados para otras especies de cérvidos donde la variabilidad genética se mantiene en las poblaciones con grupos matrilineales con hembras filopátricas y dispersión en los machos (Mathews & Porter 1993).

El análisis a partir de las muestras provenientes de fecas no permite establecer relaciones claras de parentesco, en este sentido sería importante optimizar la metodología para obtener un mayor número de alelos por muestra.

Los individuos monitoreados que conformaban grupos se constituyeron por hembras con un mayor grado de parentesco entre sí, que con los machos. Este tipo de patrón, con una estructuración intra-poblacional a nivel de

---

<sup>8</sup> El  $N_e$  en el genoma mitocondrial es mucho menor al nuclear por tratarse de un genoma haploide y por ser de herencia materna (efecto del sistema de apareamiento) Culver M, Hedrick PW, Murphy K, O'Brien S, Hornocker MG. 2008. Estimation of the bottleneck size in Florida panthers. *Animal Conservation* 11:104–10

hembras pero no de machos ya ha sido descrito para otros ungulados (Nussey *et al.* 2005). Esos autores a su vez observaron una declinación en la estructuración en un período de 24 años, que podría deberse a los factores tanto a la densidad de hembras o al grado de poliginia.

#### 4.5.3 Análisis entre poblaciones

Todas las muestras utilizadas para la comparación inter-poblacional fueron procesadas conjuntamente en esta tesis, esto hace que los resultados entre las poblaciones sean comparables. El análisis poblacional global con estos marcadores se caracteriza por un bajo nivel de estructuración dentro de la especie. Mientras que el análisis de secuencias de ADNmt, mostró una diferenciación significativa entre las poblaciones de venado de campo<sup>9</sup> (González *et al.* 1998). La discrepancia en estos resultados es consistente con lo esperado para especies donde las hembras tienen menor dispersión y flujo génico que los machos, de manera que la estructuración genética es detectable en el análisis de secuencias de herencia materna (Avice 1995).

El análisis Bayesiano de estructuración a partir de este set de cinco loci hipervariables, detecta como más probable la existencia de dos grupos. Los individuos de la población de Los Ajos se agrupan en uno de los grupos y el resto de las poblaciones en el otro. Esta diferenciación se puede

---

<sup>9</sup> Las poblaciones de Argentina (San Luis y Bahía de Samborombón) fueron las únicas que no presentaron una diferenciación estadísticamente significativa a partir del análisis de ADNmit.

enmarcar en un efecto tipo fundador determinado por variaciones a lo largo del tiempo del  $N_e$  junto con un pequeño número censal.

La población Emas presenta cierta divergencia que es detectada en el análisis de correspondencia. Esta divergencia, especialmente con la contraparte brasilera del Pantanal es también detectada en el análisis de haplotipos mitocondriales (González *et al.* 1998) que sería explicada por una diferenciación por distancia (Slatkin 1993) que determinan una variación morfológica y fisiológica que corresponden con la diferenciación subespecífica de Cabrera (1943). Con el análisis de correspondencia detectamos que la población de Emas presenta una marcada divergencia genética. La misma ya había sido puesta en evidencia en el análisis de las secuencias D loop, con la cual se identificaron 5 unidades para el manejo y la conservación en el venado de campo (González *et al.* 1998). Sin embargo, con marcadores nucleares RAPDs no había sido posible determinar diferenciación genética entre las poblaciones brasileras, Emas y Pantanal, a pesar de que fueron detectados patrones exclusivos para cada una de estas poblaciones (Rodrigues *et al.* 2007). Estos autores remarcan la necesidad de incorporar distintos tipos de marcadores moleculares, ya que los mismos pueden resaltar aspectos diferentes de la historia de las poblaciones o del comportamiento de esta especie.

La población de San Luis no se encontraría en equilibrio de H-W, mientras que la población de Bahía de Samborombón es la que presenta el mayor grado de endogamia. Sin embargo sería interesante re-evaluar estos resultados con una mayor representación de muestras de las otras poblaciones. Idealmente el análisis de la estructura genética debe basarse

en individuos del mismo cohorte, sin embargo las posibilidades de obtener una muestra de tamaño significativo con esas características para especies longevas y con solapamiento generacional son limitadas, más aún cuando se basa en métodos de colecta no invasiva (Balloux & Lugon-Moulin 2002).

#### 4.5.4 Genética de la conservación

Esta tesis describe características relevantes de la estructura genética de la población Los Ajos a partir de muestras colectadas durante un período de 17 años, que comprende tres generaciones. Estas muestras fueron utilizadas en la mayor parte de los análisis como un pool único, debido a que una subdivisión temporal generaría tamaños de muestra reducidos.

Los resultados obtenidos sugieren que deben continuarse los esfuerzos de conservación para aumentar el hábitat disponible para la especie y reducir episodios de caza ilegal a fin de mantener la organización social de las poblaciones de venados. Estos esfuerzos son realmente críticos si consideramos el reducido tamaño de sus poblaciones, y el efecto que puede tener en el tamaño efectivo una disminución en la densidad de hembras o del número de machos dominantes (más susceptibles a ser trofeos de caza).

Schwartz *et al.* (2007) destacan la diferencia entre los estudios en los que se caracteriza una población, de aquellos que implican un monitoreo genético a lo largo del tiempo. En este estudio hallamos que el  $N_e$  en la población Los Ajos es reducido (69 individuos) y que el alejamiento de esta población del equilibrio de H-W puede deberse a variaciones

temporales en el tamaño poblacional y en el número efectivo. Se observa para esta población un efecto fundador. Mace & Lande (1991) sugieren que poblaciones con  $N_e$  entre 25 y 125, con menos de un migrante por generación, deben considerarse en peligro crítico.

Es por ello relevante plantearse como un objetivo para la conservación de la subespecie un monitoreo genético que permita analizar muestras de no menos de 30 ejemplares con intervalos de siete años. Se podrá así contar con información que permita cuantificar cambios en los parámetros genéticos poblacionales, así como otros datos poblacionales generados a partir de marcadores moleculares, a lo largo del tiempo.

## 4.6 Bibliografía

- Allendorf FW, Luikart G. 2007. *Conservation and the genetics of populations*. Malden, MA; Oxford: Blackwell Pub. 642 pp.
- Armstrong E, Leizagoyen C, Martínez AM, González S, Delgado JV, Postiglioni A. 2010. Genetic structure analysis of a highly inbred captive population of the African antelope *Addax nasomaculatus*. Conservation and management implications. *Zoo Biology* 29:1–14
- Avise JC. 1995. Mitochondrial DNA polymorphism and a connection between genetics and demography of relevance to conservation. *Conservation Biology* 9:686–90
- Balloux F, Lugon-Moulin N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology* 11:155–65
- Barton NH, Slatkin M. 1986. A Quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity* 56:409–15
- Beebe T, Rowe G. 2008. *An Introduction to Molecular Ecology*. Oxford: Oxford University Press. 400 pp.
- Beja-Pereira A, Zeyl E, Ouragh L, Nagash H, Ferrand N, *et al.* 2004. Twenty polymorphic microsatellites in two of North Africa's most threatened ungulates: *Gazella dorcas* and *Ammotragus lervia* (Bovidae; Artiodactyla). *Molecular Ecology Notes* 4:452–5
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. *Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France)*
- Bidlack AL, Cook JA. 2002. A nuclear perspective on endemism in northern flying squirrels (*Glaucomys sabrinus*) of the Alexander Archipelago, Alaska. *Conservation Genetics* 3:247–59
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics* 32:314–31
- Cabrera A. 1943. Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica. *Revista del Museo de La Plata (n.s) Sec. Zool*:5–41

- Cornuet JM, Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* 144:2001-14
- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M. 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153:1989-2000
- Cosse M, Gonzalez S, Maldonado JE. 2007. Cross-amplification tests of ungulate primers in the endangered Neotropical pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Genetics and Molecular Research* 6:1118-22
- Côté SD, Dallas JF, Marshall F, Irvine RJ, Langvatn R, Albon SD. 2002. Microsatellite DNA evidence for genetic drift and philopatry in Svalbard reindeer. *Molecular Ecology* 11:1923-30
- Culver M, Hedrick PW, Murphy K, O'Brien S, Hornocker MG. 2008. Estimation of the bottleneck size in Florida panthers. *Animal Conservation* 11:104-10
- Chapuis M-P, Estoup A. 2007. Microsatellite Null Alleles and Estimation of Population Differentiation. *Molecular Biology and Evolution* 24:621-31
- Eisen JA. 1999. Mechanistic basis for microsatellite instability. In *Microsatellites: evolution and applications*, ed. DB Goldstein, C Schlötterer, pp. 34-48. Oxford; New York: Oxford University Press
- Engel SR, Linn RA, Taylor JF, Davis SK. 1996. Conservation of Microsatellite Loci across Species of Artiodactyls: Implications for Population Studies *Journal of Mammalogy* 77:504-18
- Galan M, Cosson JF, Aulagnier S, Maillard JC, Thévenon S, Hewison AJM. 2003. Cross-amplification tests of ungulate primers in roe deer (*Capreolus capreolus*) to develop a multiplex panel of 12 microsatellite loci. *Molecular Ecology Notes* 3:142-6
- Gaur A, Singh A, Arunabala V, Umapathy G, Shailaja K, Singh L. 2003. Development and characterization of 10 novel microsatellite markers from Chital deer (*Cervus axis*) and their cross-amplification in other related species. *Molecular Ecology Notes* 3:607-9
- González S. 2004. Biología y conservación de Cévidos Neotropicales del Uruguay, Informe Proyecto CSIC-UdelaR

- González S, Maldonado JE, Leonard JA, Vilà C, Duarte JMB, *et al.* 1998. Conservation genetics of the endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Molecular Ecology* 7:47-56
- Goudet J. 1995. FSTAT (Version 1.2): A Computer Program to Calculate F-Statistics. *The Journal of Heredity* 86:485
- Guo SW, Thompson EA. 1992. Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* 48:361-72
- Guo X, Elston RC. 1999. Linkage information content of polymorphic genetic markers. *Human Heredity* 49:112-8
- Hajji GM, Zachos FE, Charfi-Cheikrouha F, Hartl GB. 2007. Conservation genetics of the imperiled Barbary red deer in Tunisia. *Animal Conservation* 10:229-35
- Hamilton MB. 2009. *Population genetics*. Chichester, UK; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell. 407 pp.
- Jarne P, Lagoda PJJ. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*. 11:424
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC. 2007. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology* 16:1099-106
- Kalinowski ST, Wagner AP, Taper ML. 2006. PROGRAM NOTE: ml-relate: a computer program for maximum likelihood estimation of relatedness and relationship. *Molecular Ecology Notes* 6:576-9
- Kimura M, Crow JF. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49:725-38
- Kimura M, Ohta T. 1978. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 75:2868-72
- Kuehn R, Anastassiadis C, Pirchner F. 1996. Transfer of bovine microsatellites to the cervine (*Cervus elaphus*). *Animal Genetics* 27:199-201
- Lettink M, Jamieson IG, Millar CD, Lambert DM. 2002. Mating system and genetic variation in the endangered New Zealand takahe. *Conservation Genetics* 3:427-34

- Li Y-C, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nevo E. 2002. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology* 11:2453-65
- Luikart G, Allendorf F, Cornuet J-M, Sherwin W. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* 89:238-47
- Mace GM, Lande R. 1991. Assessing Extinction Threats: Toward a Reevaluation of IUCN Threatened Species Categories. *Conservation Biology* 5:148-57
- Manel S, Berthier P, Luikart G. 2002. Detecting Wildlife Poaching: Identifying the Origin of Individuals with Bayesian Assignment Tests and Multilocus Genotypes. *Conservation Biology* 16:650-9
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution* 18:189-97
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LE, Pemberton JM. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology* 7:639-55
- Mathews NE, Porter WF. 1993. Effect of Social Structure on Genetic Structure of Free-Ranging White-Tailed Deer in the Adirondack Mountains. *Journal of Mammalogy* 74:33-43
- Maudet C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, *et al.* 2002. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: applications in Alpine ibex [*Capra ibex (ibex)*]. *Molecular Ecology* 11:421-36
- McEachern M, Van Vuren D, Floyd C, May B, Eadie J. 2010. Bottlenecks and rescue effects in a fluctuating population of golden-mantled ground squirrels (*Spermophilus lateralis*). *Conservation Genetics: in press* 12 pp. DOI: 10.1007/s10592-010-0139-z
- Medrano JF, Aasen E, Sharrow L. 1990. DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques* 8:43
- Michalakis Y, Excoffier L. 1996. A Generic Estimation of Population Subdivision Using Distances Between Alleles With Special Reference for Microsatellite Loci. *Genetics* 142:1061-4

- Nei M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics* 41:225-33
- Nussey DH, Coltman DW, Coulson T, Kruuk LE, Donald A, et al. 2005. Rapidly declining fine-scale spatial genetic structure in female red deer. *Molecular Ecology* 14:3395-405
- Oosterhout CV, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P. 2004. micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535-8
- Ortega J, Maldonado JE, Arita HT, Wilkinson GS, Fleischer RC. 2002. Characterization of microsatellite loci in the Jamaican fruit-eating bat *Artibeus jamaicensis* and cross-species amplification. *Molecular Ecology Notes* 2:462-4
- Palstra FP, Ruzzante DE. 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? *Molecular Ecology* 17:3428-47
- Pimm SL, Gittleman JL, McCracken GF, Gilpi ME. 1989. Plausible alternatives to bottlenecks to explain reduced genetic diversity *Trends in Ecology & Evolution* 4:176-8
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-59
- Randall D, Pollinger J, Argaw K, Macdonald D, Wayne R. 2009. Fine-scale genetic structure in Ethiopian wolves imposed by sociality, migration, and population bottlenecks. *Conservation Genetics*
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism *Journal of Heredity* 86:248-9
- Rice WR. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43 223-5
- Rodrigues F, Garcia J, Ramos P, Bortolozzi J, Duarte J. 2007. Genetic diversity of two Brazilian populations of the Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758). *Brazilian Journal of Biology* 67:805-11
- Rousset F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8:103-6

- Rousset F. 2009. Genepop 4.0 for Windows and Linux.
- Schuelke M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology* 18:233-4
- Schwartz MK, Luikart G, Waples RS. 2007. Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology and Evolution* 22:25-33
- Selkoe KA, Toonen RJ. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9:615-29
- Slate J, Coltman DW, Goodman SJ, MacLean I, Pemberton JM, Williams JL. 1998. Bovine microsatellite loci are highly conserved in red deer (*Cervus elaphus*), sika deer (*Cervus nippon*) and Soay sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics* 29:307-15
- Slatkin M. 1993. Isolation by Distance in Equilibrium and Non-Equilibrium Populations. *Evolution* 47:264-79
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:1463
- Taberlet P, Waits LP, Luikart G. 1999. Noninvasive genetic sampling: look before you leap. *Trends in Ecology & Evolution* 14:323-7
- van Hoof WF, Groen AF, Prins HHT. 2003. Genetic structure of African buffalo herds based on variation at the mitochondrial D-loop and autosomal microsatellite loci: Evidence for male-biased gene flow. *Conservation Genetics* 4:467-77
- Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation model revisited. *Genetics* 133:737-49
- Waits LP, Luikart G, Taberlet P. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. *Molecular Ecology* 10:249-56
- Waits LP, Paetkau D. 2005. Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologist: a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management* 69:1419-33
- Wang M, Schreiber A. 2001. The impact of habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in Central Europe. *Heredity* 86:703-15

- Waples RS, Do C. 2010. Linkage disequilibrium estimates of contemporary  $N_e$  using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evolutionary Applications* 3:244-62
- Waples RS, Do CHI. 2008. LDNE: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources* 8:753-6
- Weir BS. 1996. Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358-70
- Wright S. 1921. Systems of Mating. II. The effects of inbreeding on the genetic composition of a population. *Genetics* 6:124-43
- Wright S. 1931. Evolution in Mendelian Populations. *Genetics* 16:97-159
- Wright S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15:323-54
- Zane L, Bargelloni L, Patarnello T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11:1-16

## 4.7 Apéndices

**Apéndice 4.1:** Listado de los loci microsatelitales analizados para una primer selección. En gris se marcan aquellos que fueron seleccionados para analizar el patrón de amplificación en venado de campo.

| Marcador | Clonado en | Cromosoma | Tamaño   | En otras especies | <i>Ovis aries</i> (Na) | <i>Cervus elaphus</i> (Na) | <i>Cervus nippon</i> (Na) | <i>Gazella dorcas</i> (Na) | <i>Ammotragus lervia</i> (Na) | <i>Capreolus capreolus</i> (Na) |
|----------|------------|-----------|----------|-------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| BM1818   | vaca       | 23        |          | 116–292           |                        | Polimórfico                |                           | 4                          | 6                             |                                 |
| BM203    | vaca       | 27        | 203±244? | 136–280           | 6                      | 8                          | 3                         | 4                          | 4                             |                                 |
| BM4513   | vaca       | 14        | 141±161  |                   | 1                      | 12                         | 3                         |                            |                               | -                               |
| BM757    | vaca       | 9         | 182±220  |                   | 3                      | 7                          | 2                         |                            |                               | Polimórfico                     |
| CSSM41   | vaca       | 22        | 130±140  |                   | 3                      | 6                          | 4                         |                            |                               | Polimórfico                     |
| CSSM43   | vaca       | 27        | 253±261  |                   | 3                      | 11                         | 4                         |                            |                               | Polimórfico                     |
| ETH225   | vaca       | 9         |          | 116–154           |                        | Polimórfico                |                           | 4                          | 5                             |                                 |
| HUJ175   | vaca       | 22        | 130±160? |                   | 3                      | 5                          | 3                         |                            |                               |                                 |
| INRA05   | vaca       | 12        |          | 154–190           |                        |                            |                           | 6                          | 6                             |                                 |
| INRA40   | oveja      | 2         |          | 154–192           |                        |                            |                           | 6                          | 7                             |                                 |
| OarVH98  | vaca       | 17        | 133±161  |                   | 3                      | 6                          | 2                         |                            |                               |                                 |
| SR12     | cabra      | -         |          | 104–180           |                        |                            |                           | 4                          | 7                             |                                 |
| SR24     | cabra      | -         |          | 116–136           |                        |                            |                           | 4                          | 7                             |                                 |
| TGLA10   | vaca       | 8         | 150      |                   | 3                      | 6                          | 3                         |                            |                               |                                 |
| TGLA378  | vaca       | 10        | 100±120  |                   | 6                      | 6                          | 4                         |                            |                               | Bajo Polimórfismo               |

**Apéndice 4.2:** Alineamiento de la secuencia amplificada venado con las del Genbank. Se detalla el número de ejemplar secuenciado, la secuencia de los cebadores y el número de acceso de la secuencia para la cual fueron diseñados.

```

BM1818
      .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      5          15          25          35          45          55
PRIMER 3'- ~~~~~~ ~AGCTGGGA ATATAACCAA AGG~.....
gi|1222848 ~~~~~~ ~AGCTGGGA ATATAACCAA AGGAAACTAA AACATGCAC T GAAAAAGATA
sp50_bm181 ~~~~~~ CTA CTAGGGCGTC CCCT-ACCAC AGG~..... ~~~~~~CACT GG~.....
PRIMER 5'- ~~~~~~

      .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      65          75          85          95          105         115
PRIMER 3'- .....
Gi|1222848 CCTGCACCCC T~ATGTTTCA T AGCAGC~A TTATTATAC ~T~AGCCAAG CAAGCCATGG
sp50_bm181 ~~~~~~ACCCC TCATGTGACC TGTGCAACTT ~CTATTATAC ATAAGACAAG CAAGCCATGG
PRIMER 5'- ~~~~~~

      .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      125         135         145         155         165         175
PRIMER 3'- .....
Gi|1222848 AAACCGCACC TAAGTTATCT CCATTCATCA AGGGATGAA T GGAGAAATTG TGTGTGTGTG
sp50_bm181 GAACA~ACC T~GTG~T CCAG~CA ATGGATGAA T GGAGAAATTG TGTGTGTGTG
PRIMER 5'- ~~~~~~

      .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      185         195         205         215         225         235
PRIMER 3'- .....
Gi|1222848 TGTGTGTGTG TGTGTATGAT GG~AATATT ATTTAGTCAT AAAA~TGAGG AAATCCTTCC
sp50_bm181 TGTGTGTGTG TGTGTGTGAG ATAAAATATT ATTTACTCAT AAAAAAGACG CACTCTTCC
PRIMER 5'- ~~~~~~

      .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      245         255         265         275
PRIMER 3'- .....
Gi|1222848 ATTTGTGATA ACAT~GC ATGGACCTTG AAAGCACT
sp50_bm181 ATTTGTTATA ACAGTCACAT GGCAGCCTTG AAAGCATG
PRIMER 5'- ~~~~~~GC ATGGACCTTG AAAGCACT

```



---

CSSM41

```
.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      5          15          25          35          45          55
5-3CSSM41 AAAGAACCGT TACACAGC.. .....
Gi|436528| AAAGAACCGT TACACAGCTA GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT GTGTGTGTGT
sp40_Cssm4 AAAGAACCGT TACCCAGC~~ .....
3-5CSSM41 ~~~~~

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      65          75          85          95          105         115
5-3CSSM41 .....
Gi|436528| ATGCTAATGT CAGAAT~~AA AGCCAAACAG AGTTAAAAGA TAAAAATAAA CAAAAGGACT
sp40_Cssm4 ATGCTAATGT CAGAATCACA CGCCAAACCC AATTAAGA TAAAAATAAA CAAAAGGACT
3-5CSSM41 ~~~~~

.....|.....| .....|.....| .....
      125         135
5-3CSSM41 .....
Gi|436528| TGTTTTAGTC CCTGCAAGTC CCTT
sp40_Cssm4 TGTTTTAGTC CNTGCAAGTC CCTT
3-5CSSM41 TGTTTTAGTC CCTGCAAGTC CCTT
```

---

INRA 40

```
.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      5          15          25          35          45          55
INRA40 5'- AGTCTCCAGG AGAGAAAAC. ....
Gi|535802| AGTCTCCAGG AGAGAAAACG TCAGACAAGA AAAAGGCTAA GGGAGTGTGA ~~~CAGTGTG
sG43_inrA4 AGTCTCCAGG AGAGAAAACG TTACAGAAC~ AGAAGGCTAA AGAGATGTGA GAACCGTGC~
INRA40 3'- ~~~~~

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      65          75          85          95          105         115
INRA40 5'- .....
Gi|535802| TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGT~~~~~ AAC TATCCCGA~~ CTAAGGAT
sG43_inrA4 TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGCGTAAATC ATTCCCAGG CTAAGGAT
INRA40 3'- ~~~~~

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....|
      125         135         145         155         165         175
INRA40 5'- .....
Gi|535802| TTGAGACCAG TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG
sG43_inrA4 TTGAGAACC G TGTGTGTGTG T~~~~~
INRA40 3'- ~~~~~

.....|.....| .....|.....| .....|.....| .....|.....| .....
      185         195         205         215         225
INRA40 5'- .....
Gi|535802| TGTGTGTGTG TGTGTGTGTG ~TACACAATC ATCCCAGGG CAGAG
sG43_inrA4 ~~~~~ ATACACAATC AGCCGGGGG CAGAG
INRA40 3'- ~~~~~ CAATC ATCCCAGGG CAGAG
```

**Apéndice 4.3:** Lista de individuos utilizados para la caracterización de loci de microsatélites, formato para Genopop.

Title line: "venados"

```

BM1818 CSSM41 BM203 BM757 INRA40
POP
EM , 246250 099121 227233 193203 153155
EM , 246250 113135 247247 191195 139139
EM , 236250 103123 235241 177179 155163
EM , 244244 123123 233235 193203 155163
EM , 238244 157157 221225 189191 163169
POP
ET , 244250 105105 229231 189201 163169
ET , 240242 129135 231237 185189 163169
ET , 240242 000000 237239 000000 151157
ET , 248250 000000 229237 191191 000000
ET , 000000 123143 233237 181201 153165
ET , 000000 121185 229233 193207 153153
ET , 244250 121135 225229 193207 157163
POP
LA , 250258 135135 237239 183185 151153
LA , 250258 000000 237237 183191 151153
LA , 238240 000000 229237 191191 153153
LA , 000000 000000 229237 189191 153153
LA , 248250 129135 229237 187199 153153
LA , 000000 135135 229237 189189 151153
LA , 000000 000000 000000 189191 153153
LA , 248248 129135 229239 000000 153157
LA , 248254 107135 237239 000000 000000
LA , 000000 105135 235239 189195 151153
LA , 238238 127129 239239 181191 155155
LA , 240242 099099 239241 191197 153157
LA , 242252 129129 237239 183185 153175
LA , 248250 121135 239239 185193 153153
LA , 000000 129131 235237 181191 153173
LA , 240248 129135 235239 181191 153157
LA , 244244 133135 235237 183191 153153
LA , 248250 121135 237239 181185 151153
LA , 238238 121129 229239 181181 153153
LA , 250250 123135 237241 181191 153157
LA , 244244 125125 229231 181185 163169
LA , 242244 129135 239241 187195 153153
LA , 238238 133135 241243 185191 153153
LA , 248248 135135 235239 183187 153153
LA , 238248 129129 235239 181191 153153
LA , 246250 135135 235239 185191 000000
LA , 238248 135135 237239 181183 153157
LA , 242242 135159 239243 181183 153153
LA , 248250 131135 237239 181185 153153
LA , 242244 135135 239241 181185 153157
LA , 246248 129135 237239 181181 155155
LA , 244244 129135 237239 193193 153157
LA , 246246 129133 239241 000000 153157
LA , 238246 121135 235239 183183 153153
POP
PA , 236238 121125 231235 000000 155165
PA , 240244 123123 223223 185201 263265
PA , 236246 105123 237237 189197 163163
PA , 246246 121135 225229 179197 161163
PA , 244244 109121 229237 179189 153163
POP
SA , 000000 000000 000000 185187 151153
SA , 244244 129137 231237 185187 151155
SA , 252252 127135 231235 185190 165165
SA , 240242 123129 233233 189195 151153
POP
SL , 244244 135137 000000 181187 000000
SL , 000000 091091 235239 185193 151175
SL , 246250 129129 223233 189195 151153
SL , 246250 101119 223235 179185 163173

```

**Apéndice 4.6:** Detalle del test exacto de Fisher para el análisis de  $\chi^2$  para todas las poblaciones analizadas

Población: EMAS

```

-----
Fis estimates
-----
Locus      P-val  S.E.  W&C   R&H   Steps
-----
BM1818    0,3499 0,0108 0,0588 0,0312 7422 switches
CSSM41    0,0551 0,0091 0,3684 0,2500 2912 switches
BM203     0,3662 0,0197 0,1579 0,1250 3118 switches
BM757     0,3566 0,0211 -0,0811 -0,0625 3087 switches
INRA40    0,3428 0,0098 0,0588 0,1250 7432 switches
  
```

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 14,1101  
 GL: 10,0000  
 Prob.: 0,1680

Población El Tapado

```

-----
Fis estimates
-----
locus      P-val  S.E.  W&C   R&H   Steps
-----
BM1818    0,0819 0,0091 -0,0929 0,0500 6853 switches
CSSM41    0,0796 0,0112 0,2708 0,1906 3377 switches
BM203     0,8275 0,0127 0,0678 0,1326 4616 switches
BM757     0,1202 0,0183 0,0687 0,0800 3232 switches
INRA40    0,7933 0,0078 0,0526 0,0133 10789 switches
  
```

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 15,1465  
 GL: 10,0000  
 Prob.: 0,1268

Población Los Ajos

```

-----
Fis estimates
-----
locus      P-val  S.E.  W&C   R&H   Steps
-----
BM1818    0,0002 0,0002 0,1122 0,0605 8698 switches
CSSM41    0,1703 0,0283 0,0780 0,1475 2408 switches
BM203     0,0010 0,0009 -0,0373 0,0956 7451 switches
BM757     0,0749 0,0150 -0,0206 0,0386 8223 switches
INRA40    0,0004 0,0004 0,1275 0,1098 1945 switches
  
```

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 55,8447  
 GL: 10,0000  
 Prob.: 0,0000

Población Pantanal

Fis estimates

| locus  | P-val  | S.E.   | W&C    | R&H    | Steps |          |
|--------|--------|--------|--------|--------|-------|----------|
| BM1818 | 0,1531 | 0,0089 | 0,2000 | 0,1556 | 7674  | switches |
| CSSM41 | 0,8702 | 0,0097 | 0,0385 | 0,0083 | 3351  | switches |
| BM203  | 0,2278 | 0,0185 | 0,2593 | 0,1917 | 3523  | switches |
| BM757  | 0,4928 | 0,0119 | 0,1351 | 0,1250 | 4957  | switches |
| INRA40 | 0,5891 | 0,0302 | 0,0769 | 0,0231 | 1436  | switches |

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 9,4641

GL: 10,0000

Prob.: 0,4887

Población Bahía de Samborombón

Fis estimates

| locus  | P-val  | S.E.   | W&C     | R&H     | Steps |          |
|--------|--------|--------|---------|---------|-------|----------|
| BM1818 | 0,0655 | 0,0044 | 0,6667  | 0,6667  | 6854  | switches |
| CSSM41 | 1,0000 | 0,0000 | -0,0909 | -0,0625 | 4381  | switches |
| BM203  | 0,4648 | 0,0083 | 0,2727  | 0,2500  | 6818  | switches |
| BM757  | 1,0000 | 0,0000 | -0,0909 | -0,0625 | 4408  | switches |
| INRA40 | 0,4735 | 0,0081 | 0,2727  | 0,2500  | 6738  | switches |

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 8,4777

GL: 10,0000

Prob.: 0,5823

Población San Luis

Fis estimates

| locus  | P-val  | S.E.   | W&C     | R&H     | Steps |          |
|--------|--------|--------|---------|---------|-------|----------|
| BM1818 | 0,0658 | 0,0086 | 0,1667  | 0,0830  | 6624  | switches |
| CSSM41 | 0,0031 | 0,0018 | 0,4133  | 0,2272  | 4901  | switches |
| BM203  | 0,1000 | 0,0113 | -0,0464 | 0,0385  | 5575  | switches |
| BM757  | 0,0089 | 0,0026 | -0,0791 | -0,0528 | 4135  | switches |
| INRA40 | 0,1553 | 0,0215 | -0,0211 | -0,0173 | 2221  | switches |

All (Fisher's method):

$\chi^2$ : 34,7878

GL: 10,0000

Prob.: 0,0001

All locus, all populations

All (Fisher's method) :

$\chi^2$ : 137,8309

GL: 60,0000

Prob.: 0,0000

**Apéndice 4.7:** Resultado del análisis de Estimativos de F para todas las poblaciones con el GENEPOP.

Estimativos multilocus para genes diploides

| Locus  | Fwc(is) | Fwc(st) | Fwc(it) |
|--------|---------|---------|---------|
| BM1818 | 0,1201  | 0,0134  | 0,1319  |
| CSSM41 | 0,1707  | 0,0544  | 0,2158  |
| BM203  | 0,0192  | 0,0451  | 0,0635  |
| BM757  | -0,0137 | 0,0284  | 0,0151  |
| INRA40 | 0,0740  | 0,1344  | 0,1985  |
| All:   | 0,0703  | 0,0528  | 0,1194  |

-----

## 5 DISCUSIÓN GENERAL

---

### 5.1 Ozotoceros bezoarticus uruguayensis

La subespecie actualmente está representada por una pequeña población con un tamaño promedio de 117 individuos ( $\bar{x}=117$ ; DS=73). En base a los datos genéticos estimamos un número efectivo 63 individuos. Los datos demográficos y genéticos indican que hay un sistema de apareamiento de poliginia con un comportamiento de fidelidad territorial en machos y hembras adultos. La fidelidad territorial en los machos también fue observada en otras poblaciones (Lacerda 2008; Moore 2001; Vila *et al.* 2008). Sería interesante estimar la proporción de sexos al nacimiento y el patrón de dispersión por parte de los machos juveniles, para establecer el tipo de factores que determinan la proporción de sexos sesgada de 0,61 machos por hembra, en Los Ajos. Moore (2001) no observó diferencias en el patrón de dispersión de machos (n=4) y hembras (n=6) para la población de El Tapado que presenta una proporción de sexos (0,67) muy similar a la de Los Ajos.

### 5.1.1 Venado de campo: hábitat, parámetros demográficos y genéticos

En especies polígamas, se observa que la tasa de emigración y la relación de denso-dependencia varían entre los sexos. Mientras que las hembras estarán limitadas por la calidad del forraje, los machos se verán limitados por su capacidad de acceso a las hembras. Es así que en función de las características del ambiente puede observarse, en una especie, variaciones en el grado de poliginia. La posibilidad de los machos de defender territorios que le permitan monopolizar un mayor número de hembras dependerá de la densidad de las hembras (Clutton-Brock 1989; Loe *et al.* 2009). La variación en la densidad entre poblaciones se correlaciona con la calidad de las pasturas. Los pastizales templados de Rocha y Salto junto a los campos abiertos con herbáceas terrestres y acuáticas del Pantanal serían los ambientes con mayor capacidad de carga para los venados. En estos ambientes observamos una densidad de venados por km<sup>2</sup> que va de 6,85 a 11; ámbitos hogar en el entorno de los 6 km<sup>2</sup> y una proporción de sexos de entre 0,61-0,67 (Cosse *et al.* 2009; Lacerda 2008; Moore 2001; Sturm 2001). En Bahía de Samborombón, el área ocupada por el venado de campo fue considerado mayormente como de calidad regular para esta especie siendo la densidad de venados significativamente menor a las observadas en las poblaciones precedentes (1,1 km<sup>2</sup>) mientras que la media del ámbito hogar fue mayor (9 km<sup>2</sup>) (Merino 2003; Vila *et al.* 2008). San Luis se caracteriza por un pastizal semiárido, con una reducción importante en la producción primaria sobre todo en el invierno, determinando un período crítico para todos los herbívoros. Estas características determinan la baja densidad poblacional

(0,63 venados por km<sup>2</sup>) y una relación de sexos de 0,76 (Bilenca & Miñarro 2004; Dellafiore *et al.* 2003; Jackson & Giulietti 1988), sería muy interesante contar con datos sobre el tamaño del ámbito hogar en esta población. El Cerrado brasileño presenta una baja significativa de la biomasa durante la estación seca, con gramíneas C<sub>4</sub> y herbáceas terrestres anuales que determinan la baja densidad poblacional y amplísimos ámbitos hogar (0,32 venados por km<sup>2</sup> y 82,2 km<sup>2</sup> de ámbito hogar) con casi 0,8 machos por hembra (Lacerda 2008; Netto *et al.* 2000; Rodrigues & Monteiro-Filho 2000).

Existe suficiente evidencia sobre el efecto de la variación en la competencia por los recursos en la composición de los grupos y el comportamiento de uso del espacio por parte de los mamíferos, y como éste, a su vez, afecta la estructura genética de las poblaciones (Nussey *et al.* 2005). Una vez delineadas las características eco-etológicas de las poblaciones analizadas, hallamos que dentro del grupo de poblaciones que se encuentran en ambientes más aptos (Pantanal y El Tapado) no muestran desvíos significativos del equilibrio de H-W y su grado de endogamia es bajo. Para la población Los Ajos encontramos crítico su tamaño poblacional que, si bien no ha determinado una baja en la heterocigosidad, está marcando un número efectivo muy reducido de la población. La población de Bahía de Samborombón es la que presenta un mayor grado de endogamia. Debido a que 4 de las cinco muestras de esta población se obtuvieron en un único evento de captura, es importante aumentar el número muestral para desechar un posible sesgo poblacional. Sería interesante tener información de la proporción de sexos para esa población

ya que podría dar indicios del efecto de este parámetro en el grado de poliginia y endogamia. En la población de San Luis hallamos un apartamiento del equilibrio de H-W aunque en este caso el número poblacional es elevado y no se observa endogamia. Es importante profundizar en los procesos demográficos y genéticos de esta población para establecer su estatus de conservación. Finalmente, hay que destacar que la población brasilera de Emas se caracteriza por estar en equilibrio de H-W y no presentar elevada endogamia diferenciándose, por tanto, de las otras poblaciones. Esta diferenciación ya fue observada a nivel mitocondrial y se corresponde con variaciones a nivel fisiológico con la otra subespecie brasilera (Pantanal) (González *et al.* 1998).

El análisis poblacional global con marcadores nucleares hipervariables muestra un bajo nivel de estructuración a diferencia de lo observado en el análisis de secuencias de ADNmt (González *et al.* 1998). La discrepancia en estos resultados es consistente con un patrón donde las hembras tienen menor dispersión y flujo génico que los machos (Avice 1995). En este tipo de estructura genética-demográfica se han observado cambios acelerados en el grado de subestructuración intrapoblacional debido tanto a la densidad de hembras o al grado de poliginia (Nussey *et al.* 2005).

#### 5.1.2 Estructura social

La estructura social en la población Los Ajos se constituye por agrupaciones con una media de 7 individuos (62% de la población) mientras que aproximadamente un 20% se encuentra solo, especialmente las hembras en la época de nacimientos. En los dos casos donde se pudo

analizar el grado de relacionamiento genético dentro de las unidades básicas, observamos un valor mayor de parentesco ( $r$ ) entre hembras. Los agrupamientos mayores serían agrupamientos laxos en los sitios de alimentación (especialmente en la pastura de invernada). Esta estrategia de agrupamiento es consistente con su masa corporal y estrategia alimenticia oportunista (Jarman 1974).

En relación a la interacción entre los sexos, los datos obtenidos por la información de los censos es consistente con lo esperado a partir de los datos reproductivos. Hay una agregación entre los sexos en el momento del cortejo y apareamiento. La segregación entre sexos se observa en el momento de los nacimientos y crecimiento de las astas y se asocia con una segregación espacial entre machos y hembras. Este aspecto apoyaría la hipótesis de riesgo de predación (Ruckstuhl & Neuhaus 2000). Sería interesante cuantificar las diferencias entre los ambientes seleccionados por machos y hembras, donde según esta hipótesis esperaríamos ambientes más protegidos para las crías y mayor calidad nutricional para los machos con astas en crecimiento.

### 5.1.3 Implicancias para la conservación

Los parámetros analizados determinan un grado importante de vulnerabilidad demográfica y genética para la subespecie *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*, que requieren priorizar el monitoreo de estos aspectos en la subespecie, junto con estrategias de mejoramiento del hábitat.

Desde 2005 se instrumenta por parte del MGAP el programa de Proyectos de Producción Responsable (PPR) que promueve, entre los productores

rurales, la adopción de sistemas de manejo integrado de los recursos naturales y la biodiversidad, sostenibles desde el punto de vista social, económico y ambiental (M.G.A.P.). A través de este programa se subsidia a productores rurales que tienen componentes de la flora y fauna que generan servicios ambientales o que presentan problemas de conservación. El apoyo es económico y financia actividades como, por ejemplo, mejoramiento de pasturas o uso de ciertos fertilizantes naturales, que generan un beneficio indirecto para los componentes silvestres que ocupan su establecimiento rural. Este tipo de iniciativa debe de continuar para asegurar un interés en los productores agropecuarios por el bienestar de la fauna y flora silvestre. Es importante promover la protección del venado de campo que permita una expansión de la población a áreas vecinas.

#### 5.1.4 Perspectivas

A partir de los datos obtenidos en esta tesis, es importante puntualizar las siguientes proyecciones:

- Avanzar en el conocimiento sobre el sistema reproductivo en esta especie.
- Analizar el patrón de dispersión de juveniles de ambos sexos.
- Optimizar la eficiencia de los métodos de análisis no invasivos a partir de fecas para mejorar el estudio de estructura social y parentesco.
- Intensificar la colecta de muestras en ejemplares que se encuentran ocupando nuevos establecimientos en la Sierra de Rocha, para afinar así, aspectos de la estructura social en esta población.

- Monitorear la población Los Ajos por períodos de entre cinco y siete años, para seguimiento demográfico y genético. Se plantea así obtener una tendencia temporal en el número efectivo así como su relación con el tamaño poblacional.
- Finalmente, es importante el empleo de metodologías uniformes por parte de los diferentes grupos de investigadores para realizar comparaciones efectivas a nivel inter-poblacional.

## 5.2 Bibliografía

- Awise JC. 1995. Mitochondrial DNA Polymorphism and a Connection Between Genetics and Demography of Relevance to Conservation. *Conservation Biology* 9:686-90
- Bilenca DN, Miñarro F. 2004. Identificación de áreas valiosas de pastizal (AVPs) en las pampas y campos de Argentina, Uruguay y sur del Brasil. 352 pp.
- Clutton-Brock TH. 1989. Mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences* 236:339-72
- Cosse M, González S, Gimenez-Dixon M. 2009. Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia* 99:158-64
- Dellafiore C, Demaría M, Maceira N, Bucher E. 2003. Distribution and abundance of the pampas deer in San Luis province, Argentina. *Mastozoología Neotropical* 10:11-47
- González S, Maldonado JE, Leonard JA, Vilà C, Duarte JMB, *et al.* 1998. Conservation genetics of the endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Molecular Ecology* 7:47-56
- Jackson JE, Giulietti J. 1988. The food habits of Pampas deer *Ozotoceros bezoarticus celer* in relation to its conservation in a relict natural grassland in Argentina. *Biological Conservation* 45:1-10
- Jarman PJ. 1974. The Social Organisation of Antelope in Relation to Their Ecology. *Behaviour* 48:215-67
- Komers PE, Brotherton PNM. 1997. Female space use is the best predictor of monogamy in mammals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 264:1261-70
- Lacerda ACR. 2008. Ecología e estrutura social do veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) no Pantanal. Ph.D. dissertation. Universidade de Brasília Brasília. 194 pp.
- Loe LE, Mysterud A, Veiberg Vr, Langvatn R. 2009. Negative density-dependent emigration of males in an increasing red deer population. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276:2581-7

- M.G.A.P., Página Web. Proyecto de Producción Responsable.  
<http://www.cebra.com.uy/presponsable/>
- Merino ML. 2003. Dieta y uso de hábitat del venado de las pampas, *Ozotoceros bezoarticus celer* Cabrera 1943 (Mammalia-Cervidae) en la zona costera de Bahía Samborombón, Buenos Aires, Argentina. Implicancias para su conservación. Universidad Nacional de la Plata, La Plata. 168 pp.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Proyecto de Producción Responsable. <http://www.cebra.com.uy/presponsable/>
- Moore D. 2001. Aspects of the behavior, ecology and conservation of the Pampas Deer. Ph.D. dissertation. State University of New York Syracuse, New York. 282 pp.
- Netto NT, Coutinho-Netto CRM, Costa MJRP, Bon R. 2000. Grouping patterns of Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Emas National Park Brazil. *Revista de Etologia* 2:85-94
- Nussey DH, Coltman DW, Coulson T, Kruuk LE, Donald A, *et al.* 2005. Rapidly declining fine-scale spatial genetic structure in female red deer. *Molecular Ecology* 14:3395-405
- Rodrigues FHG, Monteiro-Filho ELA. 2000. Home range and activity patterns of pampas deer in Emas National Park, Brazil. *Journal of Mammalogy* 81:1136-42
- Sturm M. 2001. Pampas Deer (*Ozotoceros bezoarticus*) Habitat Vegetation Analysis and Deer Habitat Utilization. Salto, Uruguay. Ph.D. dissertation. State University of New York Syracuse, New York. 109 pp.
- Vila AR, Beade MS, Barrios Lamunière D. 2008. Home range and habitat selection of pampas deer. *Journal of Zoology* 276:95-102
- Wang M, Schreiber A. 2001. The impact of habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in Central Europe. *Heredity* 86:703-15

## 5.3 Apéndices

Artículos publicados durante el desarrollo de esta tesis:

Cosse M, Gonzalez S, Maldonado JE. 2007. Cross-amplification tests of ungulate primers in the endangered Neotropical pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Genetics and Molecular Research* 6:1118-22

Cosse M, González S, Gimenez-Dixon M. 2009. Feeding ecology of *Ozotoceros bezoarticus*: conservation implications in Uruguay. *Iheringia. Série Zoologia* 99:158-64