

Rodolfo Ungerfeld
Solana González-Pensado
Matías Villagrán • Alejandro Bielli
Carmen Rossini • Jéssica Morales
William Pérez • Juan Pablo Damián

Biología reproductiva del venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*)



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



bibliotecaplural

Rodolfo Ungerfeld • Solana González-Pensado
Matías Villagrán • Alejandro Bielli
Carmen Rossini • Jéssica Morales
William Pérez • Juan Pablo Damián

Biología reproductiva
del venado de campo
(*Ozotoceros bezoarticus*)

La publicación de este libro fue realizada con el apoyo
de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República.

Comité de referato de la Facultad de Veterinaria: Dra. Celia Tasende, Dr. José Repetto y Dr. Luis Barros

© Rodolfo Ungerfeld, Solana González-Pensado, Matías Villagrán, Alejandro Bielli, Carmen Rossini,
Jéssica Morales, William Pérez, Juan Pablo Damián.

© Departamento de Publicaciones, Unidad de Comunicación de la Universidad de la República (UCUR)

José Enrique Rodó 1827 - Montevideo C.P.: 11200

Tels.: (+598) 2408 57 14 - (+598) 2408 29 06

Telefax: (+598) 2409 77 20

www.universidadur.edu.uy/bibliotecas/dpto_publicaciones.htm

infoed@edic.edu.uy

ISBN: 978-9974-0-0717-8

CONTENIDO

Agradecimientos	13
1. Introducción	15
2. Descripción general de la especie	17
3. Población de venados de campo en la ECFA	18
4. Reproducción en la hembra	20
4.1 Anatomía de los órganos genitales femeninos.....	20
Introducción	20
Materiales y métodos	20
Resultados y discusión.....	20
4.2 Edad a la pubertad y duración del ciclo estral	22
Introducción	22
Materiales y métodos	23
Resultados y discusión.....	23
5. Reproducción en los machos	24
5.1 Anatomía del tracto reproductivo de los machos	24
Introducción	24
Materiales y métodos	24
Resultados y discusión.....	24
5.2 Desarrollo sexual de los machos.....	26
Introducción	26
Materiales y métodos	26
Resultados y discusión.....	27
6. Estacionalidad reproductiva.....	28
6.1 Hembras.....	28
6.1.1 Distribución estacional de los partos.....	28
Introducción	28
Materiales y métodos	29
Resultados	29
Discusión.....	31
6.1.2 Intervalo interpartos.....	32
Introducción	32
Materiales y métodos	33
Resultados	33
Discusión.....	33
6.2 Machos.....	34
Introducción	34
6.2.1 Cambios morfométricos, hormonales y seminales	34

Introducción	34
Materiales y métodos.....	35
Resultados.....	36
Discusión.....	38
6.2.2 Ciclo de astas.....	40
Introducción	40
Materiales y métodos.....	40
Resultados.....	41
Discusión.....	42
7. Comportamiento reproductivo.....	44
7.1 Comportamiento de cortejo y cópula.....	44
Introducción	44
Materiales y métodos.....	45
Resultados y discusión.....	45
Cortejo.....	45
Descripción sintética del comportamiento de copula.....	58
7.2 Comportamiento agonístico de los machos.....	61
Introducción	61
Materiales y métodos.....	61
Resultados.....	61
Discusión.....	62
8. Comunicación química en el venado de campo.....	65
8.1 Comportamiento de marcación	65
Introducción	65
Materiales y métodos.....	65
Resultados.....	65
Discusión.....	66
8.2 Estudios preliminares de las secreciones sebáceas.....	68
Introducción	68
Materiales y métodos.....	77
Colecta de muestras.....	77
Extracción de los componentes volátiles de las muestras.....	78
Análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).....	78
Resultados.....	78
Volátiles de la secreción proveniente de glándulas tarsales	79
Volátiles de la secreción proveniente de glándulas preorbitales.....	79
Volátiles de la secreción proveniente de glándulas interdigitales.....	80
Volátiles de los controles.....	80
Discusión, conclusiones y perspectivas	82
9. Características de las astas.....	83
9.1 Características, tamaño, y peso de las astas	83
Introducción	83
Materiales y métodos.....	83
Resultados.....	84
Discusión.....	86

9.2. Estímulos sociales:	
efecto de la presencia de hembras sobre las astas de los machos	87
Introducción	87
Materiales y métodos	88
Manejo de animales y recolección de astas.....	88
Tamaño de astas y número de perlas.....	88
Color de astas.....	88
Análisis estadísticos.....	89
Resultados	89
Caída de astas.....	89
Tamaño de astas y número de perlas.....	89
Color de astas.....	89
Discusión	92
10. Obtención de semen	94
Introducción	94
Materiales y métodos	95
Resultados	96
Discusión.....	96
11. Síntesis y perspectivas.....	98
Bibliografía.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Localización de las poblaciones de venado de campo en el Uruguay.....	14
2. Fotos de un macho (A) y una hembra (B) tomadas en la ECFA.....	17
3. Disposición, tamaño e identificación (numeración) de los encierros en que se manejaron los venados en los trabajos realizados en la ECFA.	19
4. Tacto reproductivo de una hembra de venado de campo.....	21
5. Corte del cérvix de una hembra de venado de campo	22
6. Vista externa de los genitales masculinos de venado de campo	25
7. Testículo, epidídimo y cordón espermático en un macho prepuberal.....	25
8. Desarrollo en machos de venado de campo, presentado agrupado de acuerdo a la edad.....	27
9. Cantidad de partos por mes (registros de la ECFA).....	30
10. Número de partos/estación de acuerdo a la cantidad de partos de la madre	30
11. Distribución de partos y de crías observadas en diferentes momentos del año	32
12. Gráficos que muestran los cambios estacionales en el peso (A), perímetro de cuello (B), concentraciones séricas de testosterona (C) en machos adultos y juveniles	37
13. Gráficos que muestran los cambios estacionales en las características seminales	38
14. Ciclo de las astas de primer ciclo y en adultos.....	41
15. Esquema comparativo del ciclo de astas en distintas poblaciones	43
16. Comportamientos de cortejo en machos	46
17. Comportamientos de cortejo del macho durante el período de aceptación de la monta.....	49
18. Comportamientos de la hembra durante el período de aceptación de la monta.....	51
19. Comportamiento agonístico en machos	62
20. Comportamiento de marcación en machos	66
21. Diversidad estructural de algunas de las moléculas descritas como potenciales semioquímicos en miembros de la familia Cervidae.....	75
22. Trazas típicas de GC/MS de las diferentes secreciones extraídas de un individuo adulto.....	78
23. Traza de GC/MS típica de la secreción extraída de los pelos sobre las glándulas tarsales (A) y preorbital (B).....	80

24. Clasificación de las astas como de dos puntas (A) o de tres puntas.....	84
25. Peso de astas (peso medio de ambas astas) en relación con los años de edad en los machos.....	85
26. Astas derechas de ocho machos	92

ÍNDICE DE TABLAS

1. Influencia de la fecha de parto anterior sobre el intervalo interparto (media \pm EE).....	33
2. Fechas medias de caída de astas.....	42
3. Número de registros en que se observó cada comportamiento por parte de los machos y de las hembras.....	52
4. Comportamientos desencadenados como respuesta a los comportamientos del macho.....	53
5. Secuencia de comportamientos desencadenados en machos y en hembras a partir de comportamientos de las hembras.....	55
6. Secreciones glandulares y excreciones implicadas en comunicación entre con-específicos en miembros de la familia Cervidae.	71
7. Tipo de compuestos identificados en los extractos diclorometánicos de la secreción sebácea proveniente de las glándulas tarsales y preorbitales	81
8. Peso de astas, circunferencias, longitudes y números de espinas, perlas y puntos accesorios.....	85
9. Peso, circunferencias y longitudes de las categorías I, II y III de las astas con tres puntas.....	87
10. Circunferencia y largo (cm) de las astas de los machos que estuvieron en contacto permanente con hembras o aislados de ellas (media \pm EE).....	90
11. Medidas de parámetros de color L*, a* y b* en el interior de la corona y en otros 5 puntos según las recomendaciones de CIE (1976) en las astas de los machos de venado de campo que estuvieron en contacto permanente con hembras o aislados de ellas (media \pm EE).....	91
12. Características seminales en venado de campo, obtenido por electro eyaculación bajo anestesia. Los parámetros seminales se presentan como media, desvío estándar (DE), mínimos y máximos.....	96

Colección Biblioteca Plural

La universidad promueve la investigación en todas las áreas del conocimiento. Esa investigación constituye una dimensión relevante de la creación cultural, un componente insoslayable de la enseñanza superior, un aporte potencialmente fundamental para la mejora de la calidad de vida individual y colectiva.

La enseñanza universitaria se define como educación en un ambiente de creación. Estudien con espíritu de investigación: ése es uno de los mejores consejos que los profesores podemos darles a los estudiantes, sobre todo si se refleja en nuestra labor docente cotidiana. Aprender es ante todo desarrollar las capacidades para resolver problemas, usando el conocimiento existente, adaptándolo y aun transformándolo. Para eso hay que estudiar en profundidad, cuestionando sin temor pero con rigor, sin olvidar que la transformación del saber sólo tiene lugar cuando la crítica va acompañada de nuevas propuestas. Eso es lo propio de la investigación. Por eso la mayor revolución en la larga historia de la universidad fue la que se definió por el propósito de vincular enseñanza e investigación.

Dicha revolución no sólo abrió caminos nuevos para la enseñanza activa sino que convirtió a las universidades en sedes mayores de la investigación, pues en ellas se multiplican los encuentros de investigadores eruditos y fogueados con jóvenes estudiosos e iconoclastas. Esa conjunción, tan conflictiva como creativa, signa la expansión de todas las áreas del conocimiento. Las capacidades para comprender y transformar el mundo suelen conocer avances mayores en los terrenos de encuentro entre disciplinas diferentes. Ello realza el papel en la investigación de la universidad, cuando es capaz de promover tanto la generación de conocimientos en todas las áreas como la colaboración creativa por encima de fronteras disciplinarias.

Así entendida, la investigación universitaria puede colaborar grandemente a otra revolución, por la que mucho se ha hecho pero que aún está lejos de triunfar: la que vincule estrechamente enseñanza, investigación y uso socialmente valioso del conocimiento, con atención prioritaria a los problemas de los sectores más postergados.

La Universidad de la República promueve la investigación en el conjunto de las tecnologías, las ciencias, las humanidades y las artes. Contribuye así a la creación de cultura; ésta se manifiesta en la vocación por conocer, hacer y expresarse de maneras nuevas y variadas, cultivando a la vez la originalidad, la tenacidad y el respeto a la diversidad; ello caracteriza a la investigación —a la mejor investigación— que es pues una de las grandes manifestaciones de la creatividad humana.

Investigación de creciente calidad en todos los campos, ligada a la expansión de la cultura, la mejora de la enseñanza y el uso socialmente útil del conocimiento: todo ello exige pluralismo. Bien escogido está el título de la colección a la que este libro hace su aporte.

La universidad pública debe practicar una sistemática Rendición Social de Cuentas acerca de cómo usa sus recursos, para qué y con cuáles resultados. ¿Qué investiga y qué publica la Universidad de la República? Una de las varias respuestas la constituye la Colección Biblioteca Plural de la CSIC.

Rodrigo Arocena

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente a quienes han participado y colaborado en diversas tareas de investigación. En especial, queremos agradecer a los siguientes investigadores nacionales que han participado de los trabajos realizados en la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (ECFA): Fernando Fumagalli (Área de Semiología, Facultad de Veterinaria), Jorge Gil (Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria), Daniel Olazábal (Cátedra de Fisiología, Facultad de Medicina), Pedro Martino (Laboratorio de Análisis Clínicos, Facultad de Veterinaria), Leticia de la Fuente (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria), Marcela Canabal (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria), Lucía Delbene (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria), Alejandro Perreta (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria), Estefanía Mesa (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria), Giannina Orcasberro (Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria).

También participaron de trabajos realizados en venado de campo los siguientes investigadores del exterior: Adrián Sestelo (Fundación Bioandina-Zoológico de Buenos Aires, Argentina), Natalie Citon (Fundación Bioandina-Zoológico de Buenos Aires, Argentina), César Savignone (Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de La Plata, Argentina), José Julian Garde (Universidad de Castilla-La Mancha, España), Miguel Coloma (INIA-Madrid, España), Mark Clauss (Universidad de Zurich, Suiza).

También agradecemos especialmente a la doctora Mary Araújo, Directora General de Higiene y Protección Ambiental de la Intendencia Municipal de Maldonado por el apoyo permanente y sostenido a nuestra actividad, y sobre todo por creer fervientemente en lo que se está haciendo.

Expresamos nuestro agradecimiento al personal de la ECFA que ha colaborado con la realización de los trabajos, especialmente a su director, Tabaré González, así como al doctor Edgardo Barrios, Ricardo Sorello, y Johnny Briosso. Al doctor José Piaggio, por la ayuda en algunos análisis estadísticos.

Para los trabajos presentados hemos recibido financiación de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República, de la Intendencia Municipal de Maldonado, de la Comisión de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEC) de la Facultad de Veterinaria, de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), y del Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (Pediciba).

1. Introducción*

El venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758), es un mamífero que ocupaba la mayor parte de las praderas del este de Sudamérica, entre los 5° y los 41° S (Jackson y Langguth, 1987). En el siglo XIX los naturalistas y viajeros reportaron una gran abundancia de la especie (Cabrera, 1943; Jackson, Landa y Langguth, 1980, 1987). De hecho, se los consideraba el cérvido más abundante en el Uruguay (Jackson y Langguth, 1980). Ejemplo de ello fueron los comentarios de Charles Darwin en su visita a nuestro país, incluidos en *El viaje del Beagle*, en los que reportó encontrar una gran cantidad de venados de campo en zonas cercanas a Montevideo, y que le llamaba la atención el particular y fuerte olor que despedían los machos. Existen registros de la exportación de más de 2.300.000 pieles de venado desde el Río de la Plata durante el siglo XIX (Thornback y Jenkins, 1982). Sin embargo, debido a la acción humana tanto directa como indirecta, la población ha disminuido marcadamente tanto en cantidad como en dispersión. Esto puede ser explicado por la fragmentación del hábitat, el desarrollo de la agricultura y la competencia por espacios con los animales domésticos (Demaría *et al.*, 2003), la caza ilegal (Jackson y Giullieti, 1988) y la transmisión de enfermedades infecciosas (Junguis, 1975-1976).

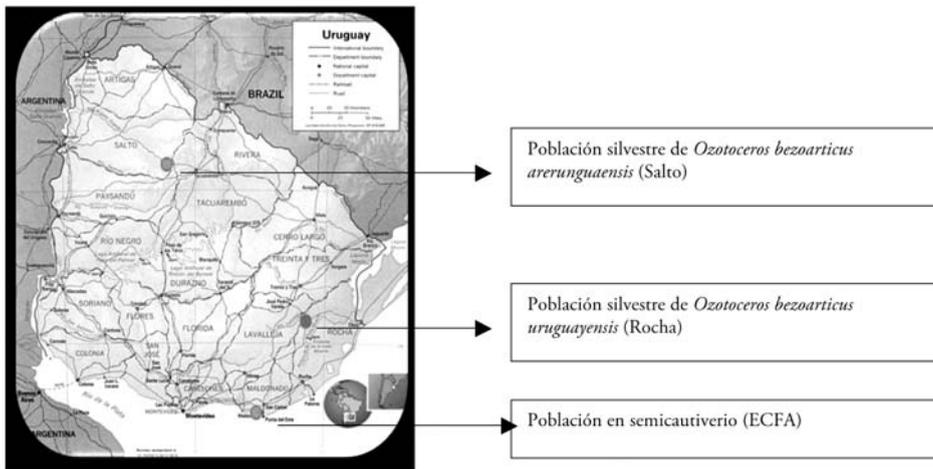
En las dos últimas décadas el aislamiento de las poblaciones ha empujado a la especie al borde de la extinción. Se ha reportado la existencia de pequeñas poblaciones en Argentina [(Bahía Samborombón (Vila y Beade, 1997), Corrientes (Parera y Moreno, 2000), San Luis (Dellafiore *et al.*, 2003), Santa Fé (Pautasso *et al.*, 2002)], Brazil (Carvalho, 1973; Góss-Braga, 1999) y Uruguay (González, 1993; Cosse, 2001). Aunque hace algunos años se reportó la existencia de poblaciones pequeñas en Bolivia (Tarifa, 1993), no existe información actualizada disponible sobre la situación de la especie. En Uruguay, existen únicamente dos poblaciones en estado silvestre, cada una de las cuales está compuesta por una subespecie diferente, y cuyo cuidado está a cargo de los propietarios de los predios donde habitan. Desde el año 1975 está incluido en el Apéndice I de CITES (Convention of Internacional Trade in Endangered Species of

* El presente trabajo está basado en los siguientes trabajos publicados en revistas científicas internacionales: Ungerfeld, R., González-Pensado, S.X., Bielli, A., Villagrán, M., Olazabal, D., y Pérez, W. (2008) *Reproductive biology of the pampas deer (Ozotoceros bezoarticus): A review*, Acta Veterinaria Scandinavica 50:16 pp; Ungerfeld, R., González, U.T., y Piaggio, J. (2008) *Reproduction in a semi-captive herd of pampas deer (Ozotoceros bezoarticus)*, Wildlife Biology 14:350-357; Ungerfeld, R., Damián, J.P., Villagrán, M., y González-Pensado, S. (2009) *Female effect on pampas deer (Ozotoceros bezoarticus) antlers*, Canadian Journal of Zoology, aceptado para su publicación; Ungerfeld, R., Bielli, A., González-Pensado, S.X., Villagrán, M., y González-Sierra, U.T. (2008) *Antler size and weight in a herd of pampas deer (Ozotoceros bezoarticus)*, Mammalian Biology, aceptado para publicación; Ungerfeld, R., Bielli, A., y González-Sierra, U.T. (2008) *Seasonal antler cycle in a herd of pampas deer (Ozotoceros bezoarticus) in Uruguay*, Mammalian Biology 73:388-391. Además de material presentado en diversos eventos nacionales y regionales, y numerosa información aún inédita. Este trabajo obtuvo el Premio Nacional de Veterinaria 2009, otorgado por la Academia Nacional de Veterinaria.

Wild Fauna and Flora) (CITES, 2008), lo que significa que está amenazado de extinción, y considerado por UICN (Internacional Union for Conservation of Nature and Natural Resources) en Peligro Crítico para ambas subespecies, por consiguiente está enfrentando un riesgo sumamente alto de extinción en estado silvestre (UICN, 2008).

La conservación de las especies en peligro de extinción no solo es importante desde el punto de vista cultural y bioeconómico, sino también desde el punto de vista de la conservación de los recursos zoogenéticos que componen la biota de una región. En este sentido las poblaciones silvestres de venado de campo que habitan nuestro territorio revisten gran importancia debido a que son dos subespecies endémicas. En efecto, *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis* se halla únicamente en la localidad de Sierra de los Ajos en el departamento de Rocha, con una población de alrededor de 300 animales. *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis* se encuentra únicamente en las localidades de Arerunguá y El Tapado en el departamento de Salto con una población aproximada de 700 animales (Weber y González, 2003) (Figura 1). Existe una tercera población de venado de campo en nuestro país, localizada en la Estación de Cría de Fauna Autóctona Cerro Pan de Azúcar (ECFA), originada a partir de animales provenientes de la población de Salto.

Figura 1. Localización de las poblaciones de venado de campo en el Uruguay.



A pesar de ser una especie amenazada, el conocimiento sobre la biología del venado de campo es escaso. El conocimiento acerca de los aspectos biológicos de las especies en peligro de extinción resulta fundamental al momento de establecer planes que apunten a la recuperación de las poblaciones naturales. A pesar de esto, muchas veces es una constante la ausencia de esta información básica, lo que dificulta enormemente el desarrollo de políticas de conservación. El venado de campo no escapa a esta realidad, no solo por el hecho de que constituye una especie en peligro de extinción, sino porque también es muy poca la información básica que existe sobre su biología. En función de ello hace unos años se conformó un equipo multidisciplinario, cuya base funciona en la Facultad de Veterinaria que ha realizado trabajos de investigación sobre aspectos

diversos de la biología de la especie, fundamentalmente la biología reproductiva. En este trabajo presentamos una síntesis de los principales resultados obtenidos hasta el momento.

2. Descripción general de la especie

Hasta hace un tiempo solo se reconocían 3 subespecies: *Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*, que habita en Brasil, *Ozotoceros bezoarticus celer*, en Argentina, y *Ozotoceros bezoarticus leucogaster*, en el suroeste de Brasil, el noreste argentino (Corrientes) y el sureste de Bolivia (Cabrera, 1943). Cabrera (1943) y Jackson (1987), quienes realizaron estudios sobre la sistemática de la especie, no pudieron describir las características taxonómicas de la población nacional. La existencia de dos subespecies diferentes, endémicas del Uruguay, fue descrita recientemente en base a estudios citogenéticos y moleculares (González *et al.*, 1998), así como morfométricos (González *et al.*, 2002). Estas son *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis*, que habita en la zona de Arerunguá, Salto, y *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*, que se encuentra en la Sierra de Ajos, Rocha (Figura 1).

Los machos presentan un tamaño algo mayor que las hembras (Jackson, 1987). En las poblaciones silvestres los machos alcanzan una longitud de 130 cm (desde la punta de la nariz hasta la base de la cola), una altura a la cruz de 75 cm, y un largo de cola de 15 cm, y pesan aproximadamente 35 kg (Jackson, 1987). Sin embargo, los datos obtenidos a partir de los animales criados en semi-cautiverio nos indican un tamaño algo menor: 90–100 cm de largo, altura a la cruz de 65–70 cm, y peso de 30–35 kg. Las astas, que solamente están presentes en los machos, son de tamaño medio cuando se las compara con las de otros cérvidos, sólidas y finas. Llegan a medir unos 30 cm, y a tener 3 puntas (Figura 2A). Las hembras alcanzan los 85 cm de largo y 65 cm de altura, con un peso de 20–25 kg (Figura 2B). Los machos suelen presentar una coloración más oscura que las hembras (Cabrera, 1943).

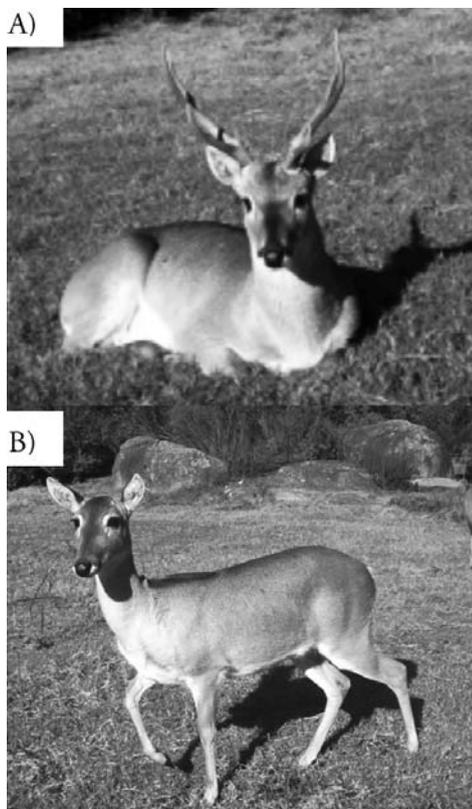


Figura 2. Fotos de un macho (A) y una hembra (B) de venado de campo tomadas en la ECFA.

3. Población de venados de campo en la ECFA

La ECFA —popularmente conocida como «la reserva de fauna de Piriápolis»— está localizada en la cercanía de Pan de Azúcar y Piriápolis, sobre la falda del Cerro que le da su nombre ($33^{\circ} 3' S$, $54^{\circ} 1' O$; altitud: ~ 200 m; a unos 6000 m de la costa). Anualmente recibe $1190,3 \pm 57,5$ mm de lluvia (media \pm EE; rango en los últimos 25 años: $846,0 - 1657,5$ mm), distribuida en forma homogénea a lo largo del año ($100,0 \pm 4,7$ mm/mes; rango: $73,6 \pm 12,1 - 121,6 \pm 17,9$ mm para diciembre y octubre respectivamente). Las horas de luz varían de $9:48$ a $14:31$. Como su nombre lo indica, en la ECFA solamente hay fauna autóctona. Además de ello, la ECFA constituye uno de los principales atractivos turísticos del departamento de Maldonado, siendo el lugar más visitado durante la temporada turística. Si bien no existen registros rigurosos, varias proyecciones sitúan la cantidad de visitantes entre 300.000 y 400.000 por año.

La población de venados de campo es la mayor en semicautiverio en el mundo. Comenzó a ser criado en 1981 a partir de siete animales (tres machos y cuatro hembras) menores de un mes que fueron capturados en la población de Salto (por tanto, *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis*) y trasladados a la ECFA. En 1982 otros catorce animales (cinco machos y nueve hembras), también menores de un mes, fueron capturados en la misma población y trasladados a la ECFA. Cinco de ellos (dos machos y tres hembras) murieron antes de alcanzar la edad reproductiva. Actualmente tiene algo más de ochenta animales manejados en régimen de semicautividad. Constituye un pool de cría adaptado a las condiciones de semicautiverio. Los animales se manejan en grupos de machos, o en harenes de un macho con siete a diez hembras y sus crías, alojados en encierros de $0,5-1$ ha. La disposición, tamaño y numeración de los encierros, a la que se hará referencia en cada trabajo específico, se presentan en la Figura 3. En ellos los animales tiene acceso a pasturas naturales, algunos árboles y arbustos de los que ramonean, y de lunes a sábados reciben ración para vacas lecheras en una cantidad que podría ser considerada como ad libitum, ya que usualmente no toda es consumida.

La Facultad de Veterinaria (Fvet) realiza actividades de investigación en la ECFA desde 2003 . Se han desarrollado varios trabajos estudiando diversos aspectos de la biología del venado de campo partiendo de contar, como se dijo, con la mayor población en cautiverio a nivel mundial. En 2007 se firmó un convenio de colaboración entre la Fvet y la IMM para potenciar las actividades de investigación. A su vez, se financió un proyecto de investigación entre la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República (Udelar) y la IMM. Toda la información incluida en este trabajo fue generada a través de las actividades mencionadas, colectando la información en la ECFA.

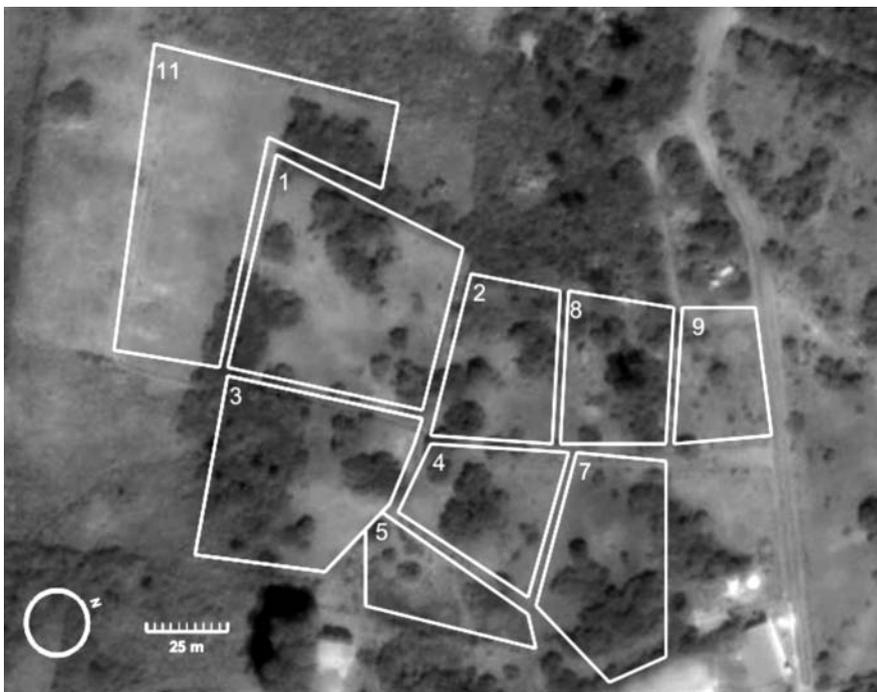


Figura 3. Disposición, tamaño e identificación (numeración) de los encierros en que se manejaron los venados en los trabajos realizados en la ECFA.

4. Reproducción en la hembra

4.1 Anatomía de los órganos genitales femeninos

Introducción

La información sobre las principales características del tracto reproductor del venado de campo es inexistente. La misma es sin duda una limitante para el desarrollo de tecnologías reproductivas, como la obtención de semen o la inseminación artificial. Por ejemplo, es necesario conocer adecuadamente la anatomía del tracto reproductivo de la hembra para determinar si es posible aplicar inseminación intrauterina, o como en otros pequeños rumiantes es necesario desarrollar estrategias específicas para ello.

Por tanto, nos planteamos describir las características anatómicas principales de del tracto reproductivo de hembras y machos, y compararlo con el de otros cérvidos.

Materiales y métodos

Los aparatos reproductores fueron obtenidos de seis hembras muertas. Las mismas fueron colectadas en la ECFA al poco tiempo de muertas, y conservadas en freezer de -20° . Tres de ellas eran prepuberales, y las otras tres eran adultas. Los términos anatómicos se utilizaron de acuerdo a la Nómina Anatómica Veterinaria (International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, 2005).

Resultados y discusión

Los órganos genitales femeninos de *Ozotoceros bezoarticus* estaban localizados dentro de la cavidad pelviana. Estos órganos eran pequeños en relación con el tamaño corporal cuando se comparan con el de otros cérvidos, como el ciervo del Padre David (Harrison y Hamilton, 1952). Considerando en su totalidad el tracto con la vagina, cuerpos y cuernos del útero, era muy alargado (Figura 4). Se reconocieron las mismas partes que están descritas para los rumiantes domésticos (International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, 2005). Los ovarios medían aproximadamente $1,0 \times 0,6 \times 0,5$ cm, y cada ovario pesaba 0,5 g, sin diferencias entre ovario derecho e izquierdo. En los ovarios estudiados no se encontraron cuerpos lúteos. Las trompas uterinas eran poco flexuosas, y corrían en el mesosalpinx a alrededor de 0,5 cm de su borde libre.

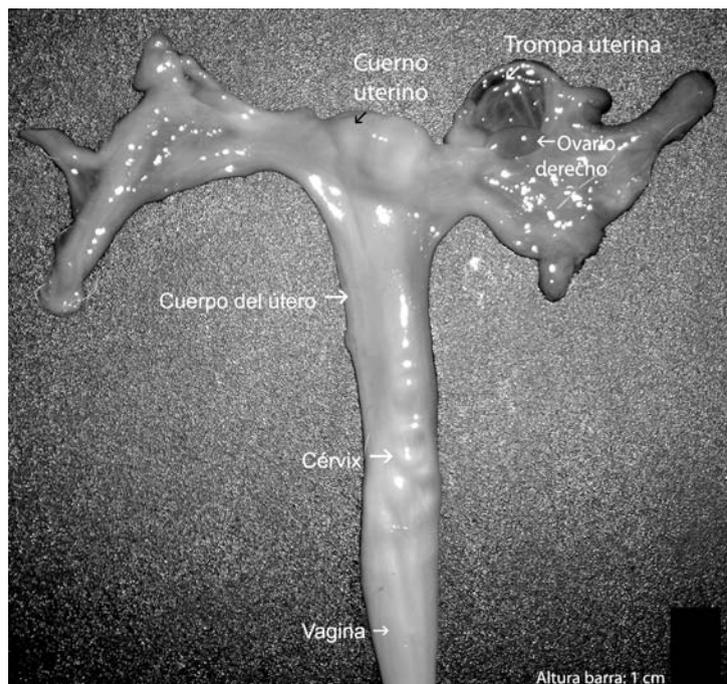


Figura 4. Tacto reproductivo de una hembra de venado de campo.

Las fimbrias ováricas, infundíbulo, ampolla e istmo estaban claramente diferenciadas. Entre la ampolla y el istmo el tracto se estrechaba en diámetro. La intensidad del color decrecía marcadamente a lo largo de las trompas uterinas, la parte distal era mucho más pálida. El útero comprendía el cérvix, cuerpo y cuernos. El útero es bicorne, estrechándose hacia el extremo proximal de los cuernos. Igual que en los rumiantes domésticos, los cuernos no son espiralados, y se dirigían lateralmente, con una ligera incurvación ventral. Ambos cuernos medían 3,0-4,0 cm de longitud. El útero no presentaba ligamento intercornual, lo que lo distingue de los rumiantes domésticos. Cada cuerno uterino tenía cuatro carúnculas alineadas en dos filas. Distalmente, los cuernos se unían a lo largo por 1,0 cm de longitud, lo que parecía incrementar la longitud del cuerpo del útero. No había carúnculas en el cuerpo del útero. La longitud del cuerpo del útero era aproximadamente de 4,5 cm y su lumen se continuaba cranealmente con el lumen de los cuernos del útero a través de dos aberturas discretas.

El cérvix era un tubo firme que podía ser distinguido fácilmente por palpación del tracto reproductor aislado, del cuerpo del útero cranealmente y de la vagina caudalmente, ambos más blandos. El cérvix tenía 4,0 cm de largo y 1,0 cm de diámetro. Cuatro pliegues circulares se proyectaban en el canal cervical (Figura 5). Estos pliegues tenían forma de anillo y variaban en tamaño y espesor. El más craneal de los pliegues era el de menor desarrollo. No se distinguió parte vaginal del cérvix. La vagina y el vestíbulo son similares a los de los rumiantes domésticos. La mucosa vaginal formaba pliegues longitudinales. Los labios vulvares y el clítoris no eran prominentes. En

general la anatomía del tracto reproductor femenino del venado de campo difería en algunos aspectos importantes de los rumiantes domésticos, entre otros por su forma alargada y sus ovarios pequeños.

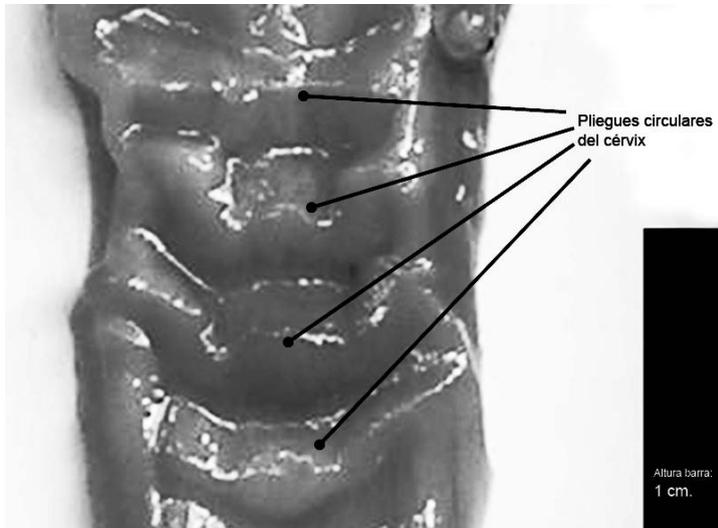


Figura 5. Corte del cérvix de una hembra de venado de campo mostrando los pliegues (anillos).

4.2 Edad a la pubertad y duración del ciclo estral

Introducción

La información disponible sobre los principales parámetros reproductivos en las hembras de venado de campo es prácticamente inexistente. No hay información consistente sobre la edad a la pubertad ni sobre la duración del ciclo estral. González-Sierra (1985), sugirió que el ciclo estral dura aproximadamente 21 días, pero sin presentar información sobre cómo fueron generados los datos.

Dada la dificultad que implica el manejo de los animales, ya que cualquier manipulación requiere que sean anestesiados, en una primera instancia nos planteamos utilizar técnicas de aproximación indirectas que si bien implican una mayor dificultad en generar datos permiten hacerlo sin manejos invasivos de los animales. Por tanto, nos planteamos determinar la edad del primer parto como una medida indirecta de la pubertad, y la influencia del manejo (animales originalmente capturados vs. animales criados en la ECFA) sobre dicho parámetro. A su vez, nos planteamos determinar el período interestros.

Materiales y métodos

La edad al primer parto se determinó a partir de registros históricos de nacimientos, a los que se agregaron registros nuevos a partir de que comenzaron a ejecutarse las actividades de la Facultad de Veterinaria en la ECFA. La influencia del lugar de nacimiento (Salto *vs.* ECFA) fue comparada utilizando un test de t.

Resultados y discusión

En la ECFA, el primer parto ocurrió a los $693,6 \pm 28,1$ días de edad, o sea, cerca de los dos años. Si tenemos en cuenta que la duración de la gestación probablemente no sea mayor de 7-7,5 meses (ver Sección 6.1.2), el primer celo fértil de las venadas nacidas en la ECFA es, por tanto, anterior a los 14 meses de edad. De todas formas, es interesante que en la ECFA en forma circunstancial observamos hembras en celo a una edad tan temprana como 7 meses, lo que sugiere que el inicio de la ciclicidad podría ser bastante más temprano.

Es interesante que las hembras nacidas en la ECFA tuvieron su primer parto más temprano ($642,5 \pm 28,4$ días) que las hembras que originalmente fueron capturadas en Salto y trasladadas a la ECFA ($872,6 \pm 46,4$ días, $P < 0,001$). Probablemente el retraso en el primer parto de las hembras traídas originalmente de Salto se vincule con el estrés de la captura, destete y transporte (Hanlon *et al.*, 1994; Waas *et al.*, 1999). Más aún, la adecuada disponibilidad de alimentos que tuvieron las hembras de la ECFA durante la lactación probablemente generó mejores condiciones que las que tuvieron las crías hembras capturadas en Salto.

De todas formas, aunque es información parcial y preliminar, a través de registros de comportamiento hemos observado repetición de comportamiento estral en períodos que sugieren una duración del ciclo estral de 20-21 días.

5. Reproducción en los machos

5.1 Anatomía del tracto reproductivo de los machos

Introducción

Al igual que para el caso de la hembra, no existe ninguna información publicada que describa la anatomía reproductiva de los machos. Por tanto nos planteamos describir la anatomía del tracto reproductivo de los machos a partir de animales muertos en la ECFA.

Materiales y métodos

La siguiente descripción corresponde a cuatro machos que murieron de causas naturales en la ECFA. Al igual que las hembras, fueron colectados al poco tiempo de su muerte y conservados en freezer a -20° hasta su disección.

Resultados y discusión

Su anatomía general era similar a la descrita para otras especies de ciervos (Haigh, 2007). El prepucio y el escroto (Figura 6) estaban cubiertos por pelos finos. Como en la hembra dos pares de mamas masculinas estaban localizadas a ambos lados del prepucio. El prepucio era un único pliegue de piel que consistía de dos láminas externa e interna. El pene tenía una raíz, cuerpo y glande. Su raíz se insertaba al arco isquiático por dos pilares redondeados. El pene era fibroelástico, sin flexura sigmoidea. La uretra estaba rodeada por un delgado cuerpo esponjoso compuesto de tejido eréctil. El escroto no pigmentado se ubicaba en la región inguinal cerca del cuerpo y cubierto por los muslos. Los conductos deferentes estaban unidos por el pliegue genital que contenía vasos sanguíneos. El testículo, epidídimo y cordón espermático en un macho prepupal pueden observarse en la Figura 7. Se reconocieron las siguientes glándulas accesorias: ampolla de los conductos deferentes, glándulas vesiculares, próstata y glándulas bulbouretrales. Sin embargo, no se observó un cuerpo de la próstata bien definido.

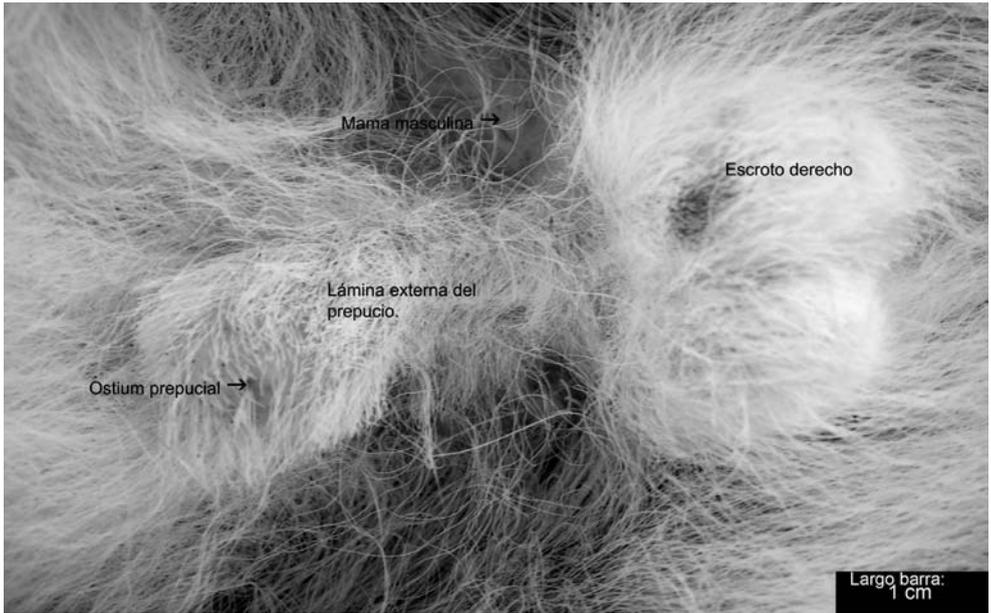


Figura 6. Vista externa de los genitales masculinos de venado de campo.

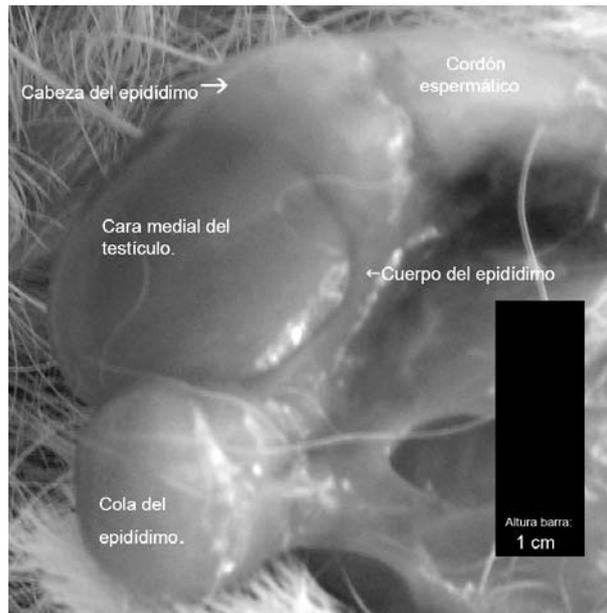


Figura 7. Testículo, epidídimo y cordón espermático en un macho prepuberal.

5.2 Desarrollo sexual de los machos

Introducción

Se sabe muy poco respecto a la fisiología reproductiva de los machos de venado de campo. El desarrollo sexual en los machos de venado de campo es conocido principalmente a partir de estudios del desarrollo de las astas. Durante sus primeros meses, las pequeñas crías macho en crecimiento, cuentan con astas de 2-8 cm de largo. Según Whitehead (1972), este fenómeno es poco frecuente en los cérvidos, y fue descrito para algunas pocas especies como el roe deer (*Capreolus capreolus*) y los renos (*Rangifer tarandus*), pero es coincidente con lo que se ha observado en venados de campo mantenidos en cautiverio en el zoológico de Berlín (Frädriich, 1981).

En observaciones preliminares de la ECFA se reportó que las crías macho que nacieron en la primavera muestran comportamiento agonístico frente a otros machos cuando tienen un año de edad González-Sierra (1985), es decir, a finales de la primavera. De acuerdo a este mismo autor, a la edad de un año los machos muestran interés por las hembras. También hemos observado el despliegue del comportamiento de cortejo por parte de machos de cinco a seis meses de edad. Sin embargo, es difícil determinar si esto corresponde al comportamiento sexual o de juego. Por lo tanto, la pubertad probablemente ocurra aproximadamente al año de edad. De todas formas, no existe información acerca de cuando se completa el desarrollo reproductivo de los machos.

Por tanto, nos planteamos como objetivo determinar la edad a la que los machos completan su crecimiento, además del tamaño testicular y la secreción de testosterona durante la estación reproductiva.

Materiales y métodos

Se utilizaron datos de 21 machos de entre dos y siete años, obtenidos durante la estación reproductiva (marzo). Los machos fueron anestesiados, y se registró su peso, las dimensiones testiculares, y se extrajo una muestra de sangre.

A partir de las dimensiones se calculó el volumen testicular considerándolo como un elipsoide. La sangre fue centrifugada, se separó el suero, y se lo almacenó a -20°C hasta la determinación de la concentración de testosterona. La cantidad de testosterona se midió a través de un ¹²⁵I RIA de fase sólida (Count-A-Count TKPG, Diagnostic Products Corporation, Los Ángeles, California, Estados Unidos). Los coeficientes de variación intra e interensayo estuvieron siempre por debajo de 10%.

Para el análisis estadístico, los datos fueron agrupados en los de dos y tres años (tres y cinco animales respectivamente), cuatro y cinco años (tres y cinco animales respectivamente), y seis y siete años (cuatro y un animal respectivamente). Las diferentes variables fueron comparadas con un ANOVA simple.

Resultados y discusión

El desarrollo, de acuerdo al peso no se completa hasta aproximadamente los cuatro años. Recién a esa edad los machos alcanzaron su máximo peso (Figura 8A). El volumen testicular y el índice gonadosomático máximos fueron alcanzados más tempranamente (Figura 8B), pero a pesar de tener cantidad de tejido testicular similar, la máxima concentración de testosterona se alcanzó recién a los seis años (Figura 8A). Ello implica que pese a que adquieren potencialidad reproductiva más tempranamente, y que en el caso de los animales cuyos datos son presentados no han tenido limitaciones en el acceso al alimento, el crecimiento es un proceso relativamente lento en la especie. Ello puede estar implicado en la mayor mortandad de machos que surge de las proporciones de sexos.

En este sentido, la proporción en los nacimientos es de aproximadamente 1:1 (140 hembras y 129 machos, Ungerfeld *et al.*, 2008), lo que coincide con lo observado en crías de la población de Salto (Moore y Müller-Schwarze, 1993, manuscrito no publicado). Sin embargo, estos mismos autores observaron proporciones de 1:1,1 a 1:2 en animales adultos. Esto indica que durante el desarrollo la mortalidad de los machos es proporcionalmente mayor que la de las hembras, lo que puede estar vinculado al lento desarrollo —y por tanto mayor susceptibilidad— observado en los machos.

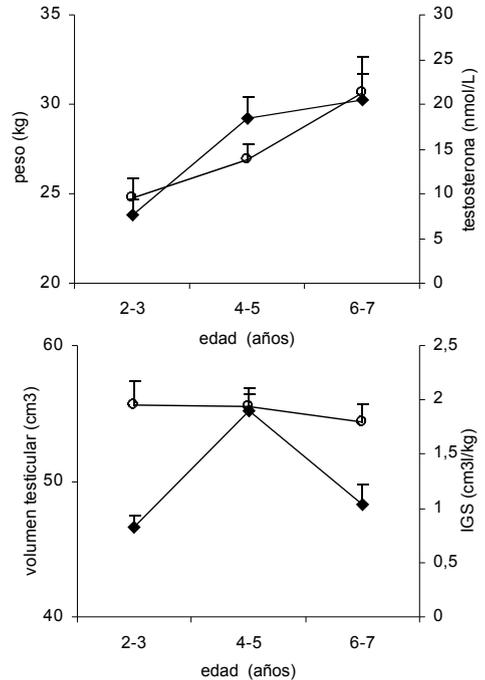


Figura 8. Desarrollo en machos de venado de campo, presentado agrupado de acuerdo a la edad. A) peso (-◆-) y concentraciones séricas de testosterona (-o-), y B) volumen testicular (-◆-) e índice gonado-somático (-o-).

6. Estacionalidad reproductiva

6.1 Hembras

6.1.1 Distribución estacional de los partos

Introducción

Es ampliamente conocido que las condiciones medioambientales pueden influir en las estrategias reproductivas de los ungulados (Apollonio, 1989; Post *et al.*, 2003). Los ciervos muestran un patrón reproductor estacional, al igual que la mayoría de los ungulados. La principal estrategia reproductiva es la sincronización de los partos para mejorar la probabilidad de supervivencia de las crías, lo que puede diferir en algunas especies de cérvidos. En las especies de clima templado como el ciervo mula (Bowyer, 1991), el ciervo de Eld (Monfort *et al.*, 1993), el ciervo almizclero (XiuXiang *et al.*, 2003), el ciervo del Padre David (Brinklow *et al.*, 1993), el ciervo rojo (Clutton-Brock *et al.*, 1982) y ciervo roe (Gaillard *et al.*, 1993), los partos ocurren en primavera-verano. En rumiantes salvajes la estacionalidad reproductiva puede ser influenciada por el fotoperíodo (Bunnell, 1980), la densidad de la población (Langvatn *et al.*, 2004), los efectos de clima de corta (Cameron *et al.*, 1993) o larga duración (Bowyer *et al.*, 1998), la condición física del animal durante la estación reproductiva (Adams y Dale, 1998), o los estímulos socio-sexuales (Verme *et al.*, 1987; Komers *et al.*, 1999).

En el venado de campo, el nacimiento de las crías parece variar según la subespecie y su localización. En términos generales, se puede decir que el venado de campo habita la zona templada subtropical (*Ozotoceros bezoarticus celer* en la Provincia de Buenos Aires, Argentina, y el *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis* y *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis* en el sudeste de Uruguay), los nacimientos pueden ocurrir durante todo el año, con un pico de parición en primavera (Uruguay) o a fines de primavera, fines de verano-comienzo de otoño (Provincia de Buenos Aires, Argentina), coincidiendo aproximadamente con el pico de abundancia de pastura. La población en San Luis, Argentina (34° S), al límite del sudoeste del rango de distribución del venado de campo, habita las praderas secas con una media de lluvia de 450 mm, de las cuales el 80% cae durante octubre-abril (Anderson *et al.*, 1970). Es interesante que esta población (*Ozotoceros bezoarticus celer*) que está casi a la misma latitud que la población al sudeste de Uruguay, pero en un clima semiárido, continental, presenta un pico de parición más corto en primavera. Además, los partos no se observan todo el año, pero se extienden desde fines del invierno, a fines de verano-comienzos de otoño. Por otro lado, *Ozotoceros bezoarticus bezoarticus* que habitan el Cerrado, región del Pantanal (Brasil), bajo condiciones tropicales donde la disponibilidad de comida varía notablemente en comparación con el hábitat en Uruguay, debido a las marcadas diferencias entre la estación lluviosa y seca. Por consiguiente, el período de partos no se extiende durante todo el

año, se limita entre julio y noviembre, con un pico en agosto-setiembre que coincide con la estación lluviosa.

Redford (1987) ha sugerido que el venado de campo es similar al ciervo axis (*Axis axis*) no teniendo una estación reproductiva definida. Sin embargo, la mayoría de los datos sugiere que aunque la estacionalidad no es tan marcada como en otras especies del ciervo (cola blanca, ciervo rojo o ciervo roe), hay diferencias en la frecuencia de nacimientos observada a lo largo del año, lo que hace pensar en una estación reproductiva extendida, y una alta plasticidad para responder a las señales ambientales a corto plazo. Además, el suministro de comida parece también ser un regulador importante de estacionalidad en venado de campo. En venados capturados y trasladados de Paraguay a Alemania (Parque zoológico de Berlín, 52° 30' N), Frädrich (1981) no informó ninguna estación reproductiva, aunque los machos presentaban un ciclo anual de astas. Sin embargo, cómo el transporte y adaptación a un nuevo ambiente, con estaciones inver-sas (debido al cambio de hemisferio) el efecto sobre la estacionalidad en la población permanece desconocido.

En función de ello, se planteó determinar la distribución de partos en la ECFA, en la que los animales responden a variaciones fotoperiódicas pero no de alimentos a lo largo del año.

Materiales y métodos

En la ECFA se cuenta con datos de 272 partos registrados durante veinte años, incluyendo la fecha, la identidad de la madre y del padre. Luego se comparó la distribución de los partos respecto a una distribución uniforme con el test de Kolmogorov-Smirnov. A su vez, la influencia de la estación y el año sobre la distribución fue testada con una regresión de Poisson. Se realizaron análisis separados de acuerdo a la edad de la madre para eliminar la influencia de la fecha del parto anterior. La estación considerada como de referencia para el modelo de la regresión de Poisson fue el verano. Cuando se determine la ocurrencia de diferencias significativas, la frecuencia de partos en diferentes estaciones fue comparada con el test de Bonferroni. Como la distribución de partos de las hembras primíparas y las hembras que solamente parieron una vez fue diferente de las hembras con tres o más partos, los datos fueron agrupados en estas dos categorías. Como la distribución de los partos de las hembras con más de 4 partos presentaba sobredispersión ($P = 0,003$), en lugar de la regresión de Poisson se utilizó una regresión binomial negativa para analizar la distribución de los partos de las hembras con más de tres partos. La frecuencia de partos por estación de acuerdo a la edad de la madre fue comparada con el test de probabilidad exacta de Fisher.

Resultados

Aunque se observaron partos todos los meses, la distribución de los mismos no fue uniforme ($P < 0,001$, Figura 9), no habiendo efecto del año ($P = 0,95$). Las hembras primíparas parieron en primavera más frecuentemente que en otras estaciones

($P < 0,01$), aunque tuvieron más partos en verano que en otoño ($P = 0,027$). No hubo diferencia en la frecuencia de partos entre otoño e invierno ($P = 1,0$).

En su segundo y tercer parto, las hembras parieron más en primavera que en las otras estaciones (segundo parto, primavera comparada con el verano: $P = 0,01$; con el otoño: $P = 0,03$; y con el invierno: $P = 0,007$; tercer parto: primavera comparada con el otoño: $P = 0,02$, con el verano: $P = 0,058$, y con el invierno: $P = 0,007$). Las hembras multíparas con más de 3 partos parieron más en la primavera que en el verano y otoño (respecto al verano: $P = 0,004$; respecto al otoño: $P < 0,001$); y el número de partos en otoño tendió a ser menor que en el verano ($P = 0,08$) y el invierno ($P = 0,067$).

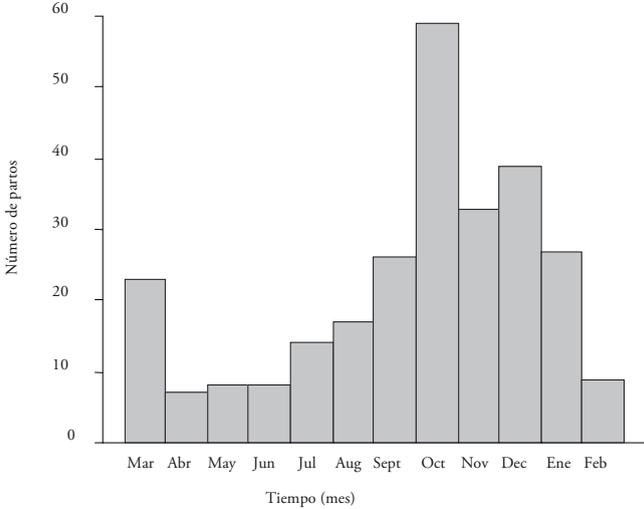


Figura 9. Cantidad de partos por mes (registros de la ECFA).

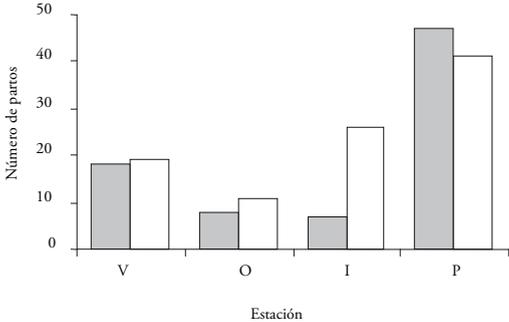


Figura 10. Número de partos-estación de acuerdo a la cantidad de partos de la madre (barras grises: uno a dos partos; barras blancas: tres o más partos).

La distribución estacional de los partos de las hembras primíparas y multíparas fue diferente ($P = 0,006$). Similarmente, la distribución estacional de partos de las hembras de segundo parto difirió de las multíparas con más de 3 partos ($P = 0,044$). La distribución estacional de los partos de hembras de tercer parto no difirió de la de hembras con mayor número de partos ($P = 0,26$). No hubo diferencias en la frecuencia observada entre el primer y segundo partos de las hembras ($P = 0,27$). Como los resultados fueron similares, la frecuencia de partos por estación de acuerdo al número de partos de la hembra se presenta agrupada en dos categorías: hembras primíparas y hembras de primer parto, y hembras con más de dos partos (Figura 10).

Discusión

Aunque se observaron los nacimientos todos los meses, la distribución a través del año hace pensar en la existencia de un patrón de reproducción estacional moderado. El patrón estacional parece ser menos rígido en las condiciones de semicautividad que en las poblaciones salvajes a las latitudes similares, sugiriendo que la disponibilidad de comida tiene una influencia directa en la actividad cíclica. Esto complementa las observaciones de un ciclo anual en las concentraciones fecales (García-Pereira *et al.*, 2005) y séricas de testosterona (ver sección 6.2.1) en machos de venado de campo. En síntesis, como para la mayor parte de los ungulados estudiados, los venados de campo presentan una mayor cantidad de partos en primavera-verano.

De acuerdo a nuestro conocimiento, no existen otros trabajos en los que se hubiera determinado la distribución de partos a lo largo del año. En otros trabajos se determinó la presencia de crías en diferentes meses, pero en diversos trabajos se han aplicados distintos criterios, por lo que es difícil hacer una comparación directa. Además, al contabilizar las crías registradas en forma periódica no se incluye la posible mortandad diferencial en distintos meses del año. En la Figura 11 se presenta un esquema con los datos de distribución de partos y crías registradas en diferentes momentos del año.

Los partos de hembras primíparas fueron más concentrados que los de hembras multíparas, en forma similar a lo que ocurre en muchos mamíferos salvajes (Sadleir, 1969; Garel *et al.*, 2005). Por consiguiente, como es el caso con el ciervo roe (Gaillard *et al.*, 1992), ciervo rojo (Bertouille y Crombrughe, 2002), el alce (Bowyer *et al.*, 1998) y el caribú (Adams y Dale, 1998), el crecimiento puede ser determinante en hembras primípara de venado de campo, necesitan alcanzar un mínimo de peso para poder quedar preñadas. Puesto que en la población de la ECFA se suplementa con alimento de forma similar durante todo el año, el fotoperíodo tendría un efecto más fuerte en las hembras puberales que las hembras adultas sobre la actividad cíclica. Esta diferencia en la estacionalidad entre hembras adultas y puberales está en concordancia con las diferencias que existen en los machos entre el primer ciclo de astas y el ciclo en los adultos (ver sección 6.2.2).

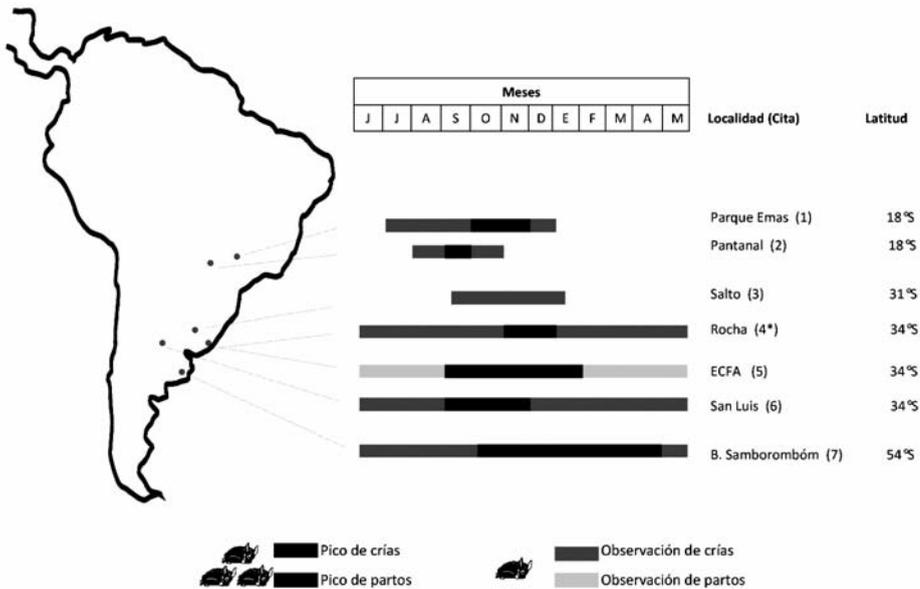


Figura 11. Distribución de partos y de crías observadas en diferentes momentos del año en poblaciones de venado de campo.

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

(1) No se especifican las características para determinar la edad de las crías. (2) Se consideraron las crías que presentaban manchas blancas, observadas en forma directa o con binoculares. (3) Se refiere a «período de parición» no especificando cuál es el pico de partos. (4) Se consideraron crías menores a tres meses, mediante observación directa y con binoculares (Lombardi, 1993). No se especificó el criterio de edad ni el método de observación (Jackson *et al.*, 1980). (5) Datos propios que corresponden a nacimientos registrados.

Considerando toda esta información, en el venado de campo parece existir una estacionalidad de partos concentrados en la primavera, pero con potencialidad a existir reproducción durante todo el año. Aparentemente existe una inducción de la ciclicidad estacional por el fotoperíodo, con una fuerte influencia de la variación de las pasturas.

6.1.2 Intervalo interpartos

Introducción

Como se conoce en las especies domésticas, el intervalo interpartos (IIP) es determinante del resultado reproductivo de una especie. El mismo depende del tiempo necesario luego del parto para reiniciar la actividad cíclica, pero en especies de reproducción estacional como el venado de campo, está influenciado por la estación reproductiva en que se produjo el parto. A su vez, en especies, que como se planteó, deben ser manejadas con la menor invasividad posible, el IIP también constituye un indicador indirecto de la duración de la gestación.

En función de lo anterior nos planteamos determinar el IIP en la ECFA, y la influencia del año, la estación de parto, el número de partos de la madre, el sexo de la cría, y la identidad de los progenitores sobre el mismo.

Materiales y métodos

A partir de los mismos registros utilizados para el análisis de la estacionalidad reproductiva se determinó el IIP. Los efectos del año, estación del parto anterior, mes, identidad de padre y madre, número de partos de la madre, y sexo de la cría sobre el IIP, así como la influencia de las mismas variables en el parto anterior al estudiado, y el peso de la cría al nacimiento fueron analizadas utilizando modelos lineales. El test de Kruskal-Wallis fue utilizado dada la heterocedasticidad del IIP en relación con la estación. Las comparaciones entre estaciones fueron realizadas con el test de Mann-Whitney. La dispersión de los IIP en función del número de partos de la madre fue comparada con el test de Bartlett.

Resultados

Considerando todos los datos, el IIP fue de 313 ± 46 días (mediana \pm semi-recorrido intercuartílico), siendo el IIP más corto de 234 días. El IIP varió de acuerdo al año ($P = 0,05$), madre ($P = 0,031$), estación ($P = 0,035$), y mes ($P = 0,044$) del parto anterior. Los IIP fueron de $251,0 \pm 8,5$ a $512,5 \pm 266,6$ días, de acuerdo a la madre, y de $270,0 \pm 28,1$ en partos de mayo a $414,4 \pm 102,8$ en partos de febrero. La fecha del parto anterior influyó sobre el IIP ($P < 0,001$; Tabla 1).

Tabla 1. Influencia de la fecha de parto anterior sobre el intervalo interparto (media \pm EE).

Estación anterior	Intervalo interpartos (días)
Primavera	$357,5 \pm 11,1$
Verano	$334,9 \pm 31,6$
Otoño	$284,5 \pm 18,2$
Invierno	$331,4 \pm 19,5$

La varianza del IIP varió en relación con el número de partos de la hembra ($P < 0,001$). El IIP de las hembras primíparas estuvo significativamente más disperso que el de las hembras múltiparas (DE: 132,6 para las primíparas *vs.* 59,8 las de segundo parto, 71,0 las de tercer parto, 52,7 las de cuarto parto, y 78,0 las de quinto parto; $P < 0,001$).

Discusión

El IIP fue menor de un año, pero difirió de acuerdo al número de partos de la hembra. A diferencia de lo que ha sido reportado en otros ruminantes (e. g. bovinos: Yavas y Walton, 2000), el IIP de las hembras primíparas no fue significativamente más largo, aunque presentó una mayor dispersión. Es interesante que los IIP menores y mayores fueron observados luego de partos de otoño y primavera respectivamente, lo que sugiere que el intervalo posparto hasta el reinicio de la actividad cíclica está influenciado por la estación. Por tanto, no solamente la actividad cíclica espontánea, sino también la

duración de la gestación y/o del intervalo parto-reinicio de la ciclicidad tienen un patrón estacional. A pesar de que no contamos con datos concluyentes sobre la duración de la gestación, la observación de IIP menores a los ocho meses reafirma la sugerencia de que la duración de la gestación podría ser menor a los siete meses.

6.2 Machos

Introducción

Al igual que las hembras, los fenómenos estacionales vinculados a la reproducción ocurren también en los machos de ungulados (Lincoln, 1992; Malpaux, 2006). En el caso de los machos, los cambios estacionales deben adaptarse y adelantarse a los de las hembras, debido a que deben estar preparados reproductivamente para cuando éstas comiencen a ciclar. Esto implica cambios endócrinos, como el aumento de la producción de testosterona (Lincoln y Short, 1980) que determina cambios comportamentales reflejados en las luchas y marcación del territorio, cambios morfológicos como la variación de peso y tamaño testicular, y cambios en la histología testicular (Hochereau de Reviers y Lincoln, 1978), y particularmente en cérvidos la renovación anual de astas (Bubenik, 1991). Todos estos cambios se dirigen a optimizar su capacidad reproductiva, aumentando su libido y calidad de semen al momento en que las hembras se encuentran ciclando (Malpaux, 2006). Todos estos cambios están ajustados por claves ambientales como la cantidad de horas luz, disponibilidad de alimento, temperatura, lluvia, etc (Malpaux, 2006).

6.2.1 Cambios morfométricos, hormonales y seminales

Introducción

En machos de venado de campo la estacionalidad parece ser moderada. Dado que en la ECFA los partos se dan durante todo el año (ver sección 6.1.1), se podría inferir que los machos están aptos para preñar las hembras durante todo el año. Sin embargo, en las subespecies de venado de campo de Uruguay y Brasil se reconocen cambios estacionales (Uruguay: González-Sierra, 1985; Brasil: Garcia-Pereira *et al.*, 2005).

En el Parque Nacional Emas (Brasil, 18° 19' S), los machos de *Ozotoceros bezoarticus bezoarticus* presentan un ciclo semestral en la concentración de testosterona fecal, con un pico en verano que corresponde a la estación reproductiva y otro pico en invierno-primavera que coincide con el período de mineralización del asta y pérdida de la felpa (Garcia-Pereira *et al.*, 2005). Aunque son datos primarios, se sugirió que la calidad de semen en *Ozotoceros bezoarticus bezoarticus* en Brasil (Pantanal Matogroso y Parque Nacional Emas) es regular en febrero, pero de calidad baja en julio y septiembre. Sin embargo, de seis animales estudiados en julio, época en la que presentan astas con felpa, produjeron semen de buena calidad (Merino *et al.*, 1997).

Basándonos en los antecedentes en el tema, nos planteamos como objetivo determinar los cambios morfológicos, endócrinos, y seminales en los machos alojados en

la ECFA, los que están sometidos a todos los cambios ambientales exceptuando los nutricionales. A su vez, considerando que en las hembras alojadas en la ECFA se observaron diferencias relacionadas con el número de partos de la misma, nos planteamos comparar la estacionalidad de machos adultos y juveniles.

Materiales y métodos

- Muestreos

Se trabajó con dos grupos de machos, uno de adultos (5 a 7 años, $n = 6$) y otro de juveniles (1,5 a 2 años, $n = 6$), que se encontraban alojados juntos desde más de un año antes de comenzar el trabajo. Se realizaron muestreos trimestrales a los 12 machos durante un año, un muestreo por estación, en otoño (abril), invierno (julio), primavera (octubre), verano (enero) y nuevamente otoño del año siguiente.

En cada muestreo los animales eran capturados mediante un dardo anestésico lanzado con cerbatana. Una vez anestesiados, los animales fueron trasladados a la sala veterinaria, donde se procedió a tomar las variables a estudiar.

- Morfometría

En primer término se determinó el peso, el perímetro de cuello, y las dimensiones testiculares (largo, ancho y profundidad). Posteriormente se calculó el volumen testicular utilizando la fórmula que corresponde a un elipsoide, y se determinó el índice gonado-somático (IGS, volumen de ambos testículos/peso del individuo).

- Testosterona

Por venopunción se extrajo sangre para determinación de las concentraciones séricas de testosterona. La sangre fue centrifugada y se separó el suero, que fue conservado a -20°C hasta la determinación de testosterona por RIA. Para ello se utilizó la misma técnica descrita en la sección 5.2.

- Semen

Finalmente mediante electroeyaculación se le extrajo semen (ver sección 10), y se determinó la calidad seminal, el total de espermatozoides por eyaculado, el porcentaje de espermatozoides vivos (evaluado por la tinción de eosina-nigrosina), el porcentaje de anomalías, y el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva.

- Análisis estadístico

Los datos fueron comparados con un ANOVA para mediciones repetidas, considerando como factores principales la estación y la categoría del individuo.

Resultados

Encontramos un patrón estacional en la mayoría de las variables estudiadas, y efectos de la edad en varias. A continuación se describen los principales efectos en cada variable.

- **Morfología**

El peso varió en relación con la fecha de muestreo (estación del año, $P = 0,03$), registrándose los menores pesos en primavera (adultos) e invierno (juveniles). El peso de los adultos fue mayor que el de los juveniles (adultos y juveniles, $P = 0,003$), además de que hubo una interacción entre ambas variables ($P = 0,003$). Como se puede observar en el gráfico (Figura 12A) al comienzo del muestreo los animales adultos parten de pesos mayores que los juveniles, pero un año más tarde los pesos no presentan diferencias.

Al igual que el peso, el perímetro del cuello varió en relación con la categoría ($P = 0,03$), y a la fecha de muestreo ($P < 0,0001$), además de que hubo una interacción entre ambas variables ($P = 0,016$). Los animales jóvenes tuvieron un perímetro de cuello inferior a los adultos (Figura 12B). Los juveniles aumentan hasta el invierno llegando a valores similares a los adultos, aunque los valores para ambas categorías cayeron en la primavera, para luego aumentar paralelamente hasta el otoño. Los machos juveniles siguieron teniendo perímetros menores que los adultos en el siguiente otoño.

Tanto el volumen testicular, como el IGS tuvieron variaciones estacionales ($P < 0,05$), con su máximo en otoño, al comienzo del muestreo, y mínimo en primavera (Figura 12D). Si bien ambas variables presentaron diferencias entre estaciones ($P < 0,001$), no se encontraron diferencias entre categorías, por lo que los datos de machos adultos y juveniles se agruparon (Figura 12D).

- **Testosterona**

Las concentraciones séricas de testosterona variaron de acuerdo a la fecha ($P < 0,0001$), y existió una tendencia a que fuera mayor en los machos adultos que en los juveniles ($P = 0,06$), además de existir una interacción entre ambas variables ($P = 0,02$) (Figura 12C). Los adultos presentaron las menores concentraciones en primavera y las mayores en otoño. En el caso de los juveniles presentan los menores niveles en invierno aumentando posteriormente hasta otoño.

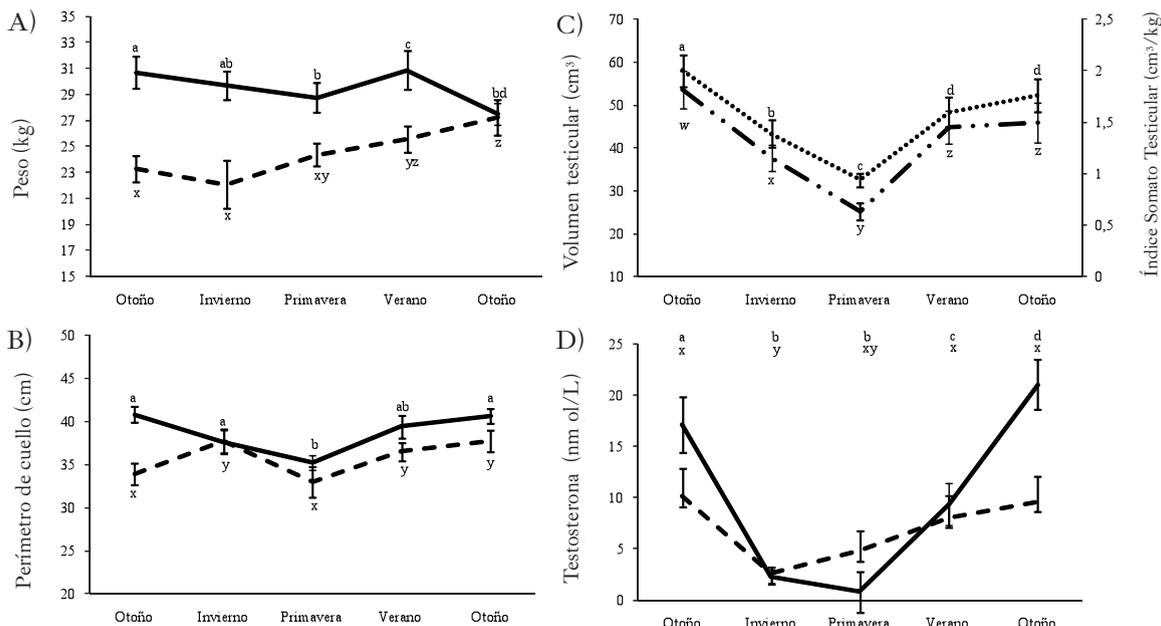


Figura 12. Gráficos que muestran los cambios estacionales en el peso (A), perímetro de cuello (B), concentraciones séricas de testosterona (C) en machos adultos (—), diferencias representadas con las letras a, b, c, d) y juveniles (---), diferencias significativas representadas con las letras x, y, z) de venado de campo. En el gráfico D se representan los cambios estacionales del volumen testicular (---), diferencias significativas representadas con las letras a, b, c, d) e índice gonado-somático (---), diferencias significativas representadas con las letras w, x, y, z).

• Semen

De los parámetros seminales estudiados, tanto el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva ($P = 0,017$, Figura 13A) como la calidad ($P = 0,002$, Figura 13A), variaron de acuerdo a la fecha, observándose los mínimos en primavera y los máximos en otoño. El porcentaje de espermatozoides vivos también varió de acuerdo a las estaciones ($P = 0,05$, Figura 13B). El porcentaje de espermatozoides con anomalías presentó un patrón estacional ($P = 0,009$, Figura 13C), siendo la cantidad de anomalías máxima en primavera, permaneciendo constante el resto del año. En todos los casos no se encontró diferencias entre categorías, por lo que los datos se presentan como media de todos los machos, adultos y juveniles.

El total de espermatozoides por eyaculado no presentó diferencias significativas entre categorías ni entre fechas, presentando una importante dispersión (Figura 13D). El porcentaje de espermatozoides motiles totales tampoco varió, siendo de $59,1 \pm 2,9\%$.

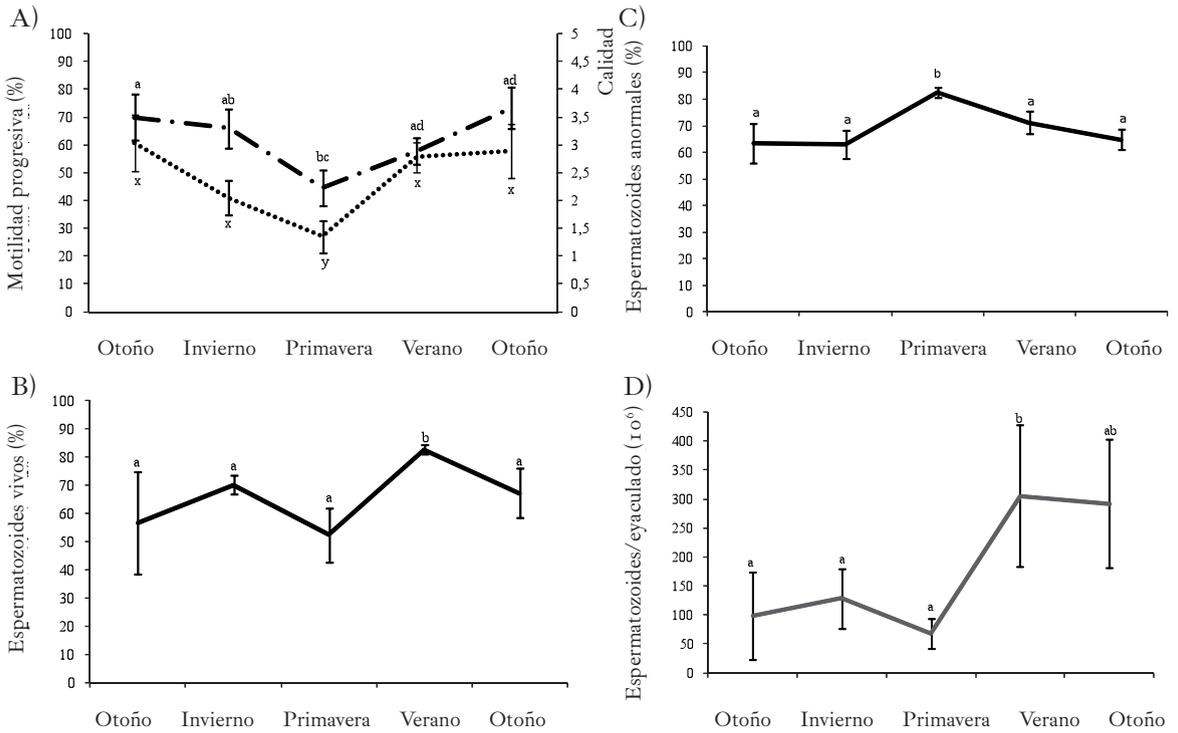


Figura 13. Gráficos que muestran los cambios estacionales en las características seminales, en el gráfico A se representa la porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva (— · —), y calidad (· · ·), porcentaje de espermatozoides vivos (B), porcentaje de espermatozoides anormales (C) y espermatozoides por eyaculado (D) en machos de venado de campo. Letras diferentes representan diferencias significativas entre estaciones.

Discusión

Este es el primer trabajo en que se determinaron los cambios morfológicos, seminales y endócrinos vinculados a estacionalidad reproductiva en machos adultos y juveniles de venado de campo. Es importante señalar que, dado que los animales recibieron una alimentación constante a lo largo del año, las variaciones estacionales registradas son atribuibles fundamentalmente al fotoperíodo. De acuerdo a los resultados, existe un patrón estacional en las características morfológicas, seminales y endócrinas encontradas a lo largo del año, encontrándose en verano-otoño los mejores niveles reproductivos, y los menores durante la primavera. El adelanto en el reinicio de la actividad reproductiva de los machos respecto al inicio de la ciclicidad en las hembras coincide con lo reportado en otros ungulados (Lincoln y Short, 1980).

Los parámetros seminales fueron afectados por la estación. Los mismos fueron asociados a los cambios endócrinos y morfométricos, lo que concuerda con lo encontrado en otros rumiantes en los que se reportó una asociación en los cambios estacionales endócrinos (concentraciones de testosterona, prolactina y melatonina) con el tamaño y la histología testicular (Hochereau de Reviere y Lincoln, 1978; Lincoln y Short, 1980).

La relación entre las variaciones de testosterona y la producción y calidad espermática ya fue reportada en otros cérvidos (Haigh *et al.*, 1984; Blottner *et al.*, 1996).

Tanto el peso como el perímetro de cuello variaron a pesar de mantener la alimentación constante a lo largo del año. Es interesante que a pesar de que los animales estén suplementados todo el año no es posible evitar las variaciones de peso estacionales, lo que posiblemente se deba a que al igual que en otros pequeños rumiantes, las variaciones anuales de la secreción de melatonina determinan cambios en el apetito, además del mayor gasto energético que implica el invierno para los animales. A su vez, en la naturaleza los machos con hembras en época reproductiva tienen grandes pérdidas de peso por el costo energético de los enfrentamientos con otros machos y la defensa de las hembras, sumado al tiempo que requiere la búsqueda de alimento (Clutton-Brock *et al.*, 1982). En carneros se ha visto una pérdida del tamaño testicular por la propia actividad reproductiva (Knight *et al.*, 1987). En cambio en nuestro trabajo podemos afirmar que los cambios registrados son consecuencia solamente del fotoperíodo, ya que además de no haber diferencias en la alimentación a lo largo del año, los animales estaban en grupos integrados solo por machos, sin acceso a las hembras.

De las variables morfológicas, el peso es un parámetro interesante para marcar la influencia diferencial de la estación entre las categorías, observándose un aumento de peso en los juveniles entre invierno y verano, mientras que los adultos pierden peso entre otoño y primavera. Posiblemente se deba a que mientras en los machos adultos la estación influyó directamente, en los juveniles aún hay influencia importante del período de crecimiento. Es interesante especular que la disminución de peso de los machos adultos durante el invierno podría vincularse con las altas demandas energéticas vinculadas a la termorregulación (Fourier *et al.*, 1999) o al crecimiento de las astas, que tienen mayor tamaño en proporción en los adultos (ver sección 9.1), pero esto no es ajeno a los machos juveniles y a pesar de ello fueron capaces de renovar sus astas y crecer sin perder peso.

En relación con el perímetro de cuello, encontramos una marcada disminución entre julio y octubre en ambas categorías, a pesar de que en los juveniles aumentaron de peso, a diferencia de los adultos. La caída en los juveniles se da a pesar de que aún están ganando peso, por lo que parece interesante especular con que el tamaño del cuello sea una característica sexual secundaria, más vinculada con la producción de testosterona.

Es interesante que los machos juveniles presenten una estacionalidad reproductiva similar a los machos adultos en las características reproductivas, no existiendo diferencias entre categorías en el volumen testicular ni el IGS, ni en ninguna característica seminal. Es interesante entonces que si bien los machos juveniles ya habían llegado a su máxima capacidad reproductiva, su crecimiento continúa aun con tres años (ver sección 5.2). Considerando que en la ECFA disponen de comida prácticamente ad libitum, el crecimiento de los machos es relativamente lento. Esto marca una diferencia con las hembras, en las que el peso de adultas es alcanzado más tempranamente. Si bien los machos juveniles al comienzo del muestreo ya no eran púberes continúan

existiendo diferencias interesantes relacionadas al desarrollo y la reproducción en esta especie que sería interesante investigar. Es interesante que también hubieron diferencias en el patrón de estacionalidad entre las hembras de primeros partos y en animales de mayor edad (ver sección 6.1.1), y en los machos también hay diferencias en las fechas del ciclo de astas de acuerdo a que sean juveniles o adultos (ver sección 6.2.2).

En síntesis, los machos de venado de campo presentan variaciones estacionales vinculadas a los cambios fotoperiódicos reflejadas en la mayoría de los parámetros reproductivos. Si bien los machos continúan con su crecimiento hasta el cuarto año de vida, la madurez reproductiva es bastante anterior.

6.2.2 Ciclo de astas

Introducción

Los cérvidos presentan ciclos anuales de las astas, en que las astas caen, crecen nuevamente, en general rodeadas de una capa de piel (felpa), que luego cae para permanecer durante el resto del año con astas limpias. El ciclo de las astas está generalmente relacionado con los cambios anuales de concentraciones plasmáticas de testosterona (ver revisión: Bubenik, 1991). El crecimiento comienza con concentraciones bajas de testosterona, aunque la finalización del mismo y la mineralización se producen cuando las concentraciones de la hormona aumentan. La caída se produce entre dos y cuatro semanas luego de la disminución anual en la producción de testosterona.

Los informes disponibles sobre el ciclo de las astas del venado de campo están basados en observaciones de machos silvestres, con las dificultades que esto implica para monitorear animales en forma individual y continua. Garcia-Pereira *et al.* (2005), observaron que la materia fecal de venados machos silvestres (18° S) tenía los mayores niveles en concentración de testosterona en diciembre y enero, en marzo y en agosto-setiembre, con caída de las astas en períodos de bajas concentraciones fecales de testosterona, y caída de la felpa en períodos de altas concentraciones. En el presente trabajo, describimos el ciclo de las astas en venados machos alojados en la ECFA, en base a registros individuales a lo largo de catorce años.

Materiales y métodos

Se registró diariamente el estatus de las astas entre 1982 y 1991, y nuevamente en 1996 y 1997. Dado que cada macho estaba identificado, era conocida la edad del mismo en el momento en que cada dato fue tomado también. Globalmente, se obtuvieron datos de 22 machos y 72 ciclos de astas, pero no todos los datos fueron registrados en cada ciclo. Los datos registrados fueron: fecha de caída del asta, primer día en que se observó la primera y la segunda punta, y día de caída de la felpa. Fueron calculados los intervalos (días) entre caída de la primera y segunda asta, entre la caída de la primer asta y observación de la primera punta, entre la primera y segunda puntas y entre caída de la primer asta y caída de la felpa.

Las medias de la fecha de caída de las astas, clasificadas de acuerdo a la edad de los machos fueron comparadas por ANOVA. Los datos individuales fueron agrupados en uno de los siguientes dos grupos: machos de primer ciclo de astas (machos de un año de edad, n=8) y machos adultos (n=64). Estos grupos fueron comparados con un test de t. Los resultados están presentados como medias \pm EE. Las diferencias entre grupos fueron consideradas significativas si $P < 0,05$.

Resultados

La fecha media de caída de la primer asta fue el $4,3 \pm 1,8$ de agosto. La caída de la segunda asta fue $0,3 \pm 0,1$ días más tarde (n=58). La primera y segunda puntas fueron observadas $22,8 \pm 0,6$ y $45,9 \pm 0,9$ días luego de la caída de la primer asta. La felpa comenzó a caer $103,3 \pm 2,1$ días luego de la caída de la primer asta (primavera avanzada). La Figura 14 resume el ciclo de las astas a lo largo del año.

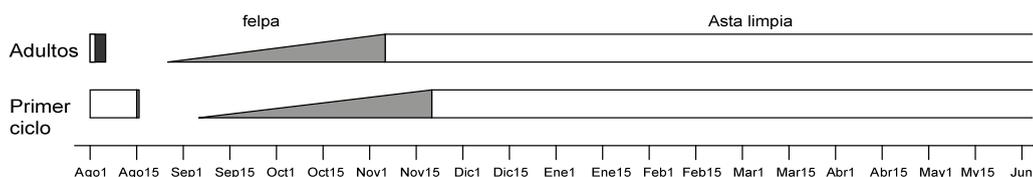


Figura 14. Ciclo de las astas en venados de campo de primer ciclo y en adultos (adaptado de Lincoln, 1992).

Ambas astas cayeron más tempranamente en los machos de primer ciclo que en los machos adultos ($P = 0,008$), pero el intervalo entre la caída de ambas astas no fue diferente (Tabla 2). Aunque los intervalos entre la caída de la primer asta y la observación de la primera punta no fueron diferentes, el intervalo entre la observación de la primera y segunda puntas fue más corto en machos de primer ciclo que en adultos ($P = 0,006$, Tabla 2). El intervalo entre caída de astas y caída de felpa no fue diferente entre machos de primer ciclo y machos adultos (Tabla 2).

Tabla 2. Fechas medias de caída de astas, caída de la primer y segunda asta, intervalos entre las caídas de la primer asta y la emergencia de la primera y segunda puntas, y de la caída de la felpa, y entre la caída de la primer y segunda asta en machos de primer ciclo y en machos adultos. CA = caída de asta; CPA = caída de la primer asta; CSA = caída de la segunda asta; Ago = Agosto.

	Machos de primer ciclo (n = g)	Adultos (n = 64)	P
CA			
CPA	Ago 16,0 ± 5,1	Ago 2,4 ± 1,8	< 0,01
CSA	Ago 16,4 ± 5,1	Ago 2,7 ± 1,8	< 0,01
Intervalo CPA-CSA (d)	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	> 0,1
Puntas			
Intervalo CPA - primera punta (d)	23,0 ± 3,5	22,8 ± 0,3	> 0,1
Intervalo CPA - segunda punta (d)	42,6 ± 3,5	46,6 ± 0,7	0,08
Intervalo primer - segunda punta (d)	19,6 ± 0,5	23,9 ± 0,6	< 0,01
Caída de la felpa			
Intervalo CPA - caída de la felpa (d)	96,6 ± 5,9	104,8 ± 0,1	> 0,1

Discusión

Hasta donde sabemos, este es el primer informe referente al ciclo de las astas en el venado de campo en que los animales hayan sido monitoreados de forma individual y continua. Nuestros datos concuerdan con las variaciones estacionales informadas por Jackson (1986) en Argentina (34° S) y por Tomás (1995) y Garcia-Pereira *et al.* (2005) en Brasil (aprox. 10° S). En la Figura 15 se presenta la información comparada sobre los reportes del ciclo de astas en poblaciones de diferentes localidades de la región. Aunque el venado de campo ha sido clasificado por Lincoln (1992) como un ciervo tropical, demuestra un gradiente a variaciones más estacionales cuando se le estudia a latitudes más altas. Dado que las fechas de las pariciones en la población que hemos estudiado sugieren la existencia de variaciones moderadamente estacionales (ver sección 6.1.1), resulta interesante que la estacionalidad en el ciclo de las astas sea tan consistente a lo largo de los años. Esto puede estar vinculado a las condiciones tan estables bajo las cuales los animales fueron manejados. Algunos factores ambientales importantes, que podrían influir sobre la cronología del ciclo de las astas, tales como nutrición, parásitos o enfermedades (Chapman, 1975) casi no variaron a lo largo de los años en esta población de venados. Sin embargo, dado que las astas cayeron consistentemente en el invierno en individuos capturados a partir de una población silvestre en Paraguay, donde no se detectó ninguna estación reproductiva definida (Frädriich, 1981), puede que se trate simplemente de una característica particular de la especie venado de campo.

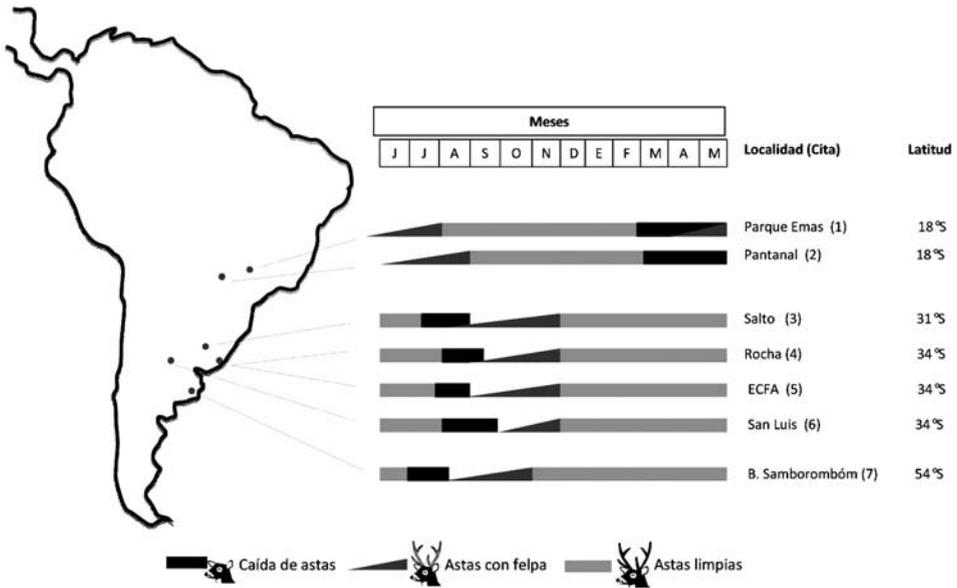


Figura 15. Esquema comparativo del ciclo de astas en distintas poblaciones de venado de campo. (1) García-Pereira *et al.*, 2005; (2) Tomás, 1988, 1995; (3) González, 1997; (4) Lombardi, 1993; Jackson y Langguth, 1987; Jackson *et al.*, 1980; (5) datos propios; (6) Jackson, 1986; (7) Jackson y Langguth, 1987.

Hemos observado que el primer ciclo de las astas (en venados de un año de edad) ocurre antes, a lo largo del año, que los ciclos de astas de venados adultos. Esto coincide con la observación que el período de mayor frecuencia en los nacimientos es más restringido en las hembras de primera parición que en hembras que ya han parido previamente (ver sección 6.1.1). Considerando en conjunto estas observaciones, parece que el fotoperíodo tiene influencias más fuertes durante la etapa de la pubertad y durante la primera estación reproductiva que en estaciones reproductivas posteriores.

En resumen, hemos descrito el ciclo de las astas y el peso de las astas en machos de venado de campo, en base a datos individuales y a lo largo de 14 años. Estos datos coinciden con informes anteriores que no eran cuantitativos. De manera similar a lo que ocurre en otras especies de cérvidos, el ciclo de las astas fue estacional, pero la persistencia del crecimiento de las astas entre un ciclo y el siguiente es una característica que diferencia al venado de campo de la mayor parte de las especies de cérvidos.

7. Comportamiento reproductivo

7.1 Comportamiento de cortejo y cópula

Introducción

En las especies que se reproducen sexualmente, el comportamiento sexual es indispensable para asegurar la continuidad de la existencia de la especie. Esta es básicamente la manifestación externa de los cambios hormonales del organismo, aunque con cierto componente de aprendizaje (Galindo y Orhiuela, 2004). El comportamiento de cortejo es una forma de comunicación entre el macho y la hembra de una misma especie, y representa un estímulo sexual para ambos. Tiene funciones tan importantes como la sincronización, orientación, persuasión y aislamiento reproductivo (Costa y Gudynas, 1995), y de cumplirse eficientemente culminará en la cópula.

Como punto de partida de toda investigación etológica es necesaria la realización de un etograma. Un etograma es un grupo de descripciones extensas de patrones comportamentales característico de una especie (Brown, 1975, citado por Lehner, 1996). Es el resultado de detallar los catálogos de comportamientos, después de muchas horas de observación (en muchos casos filmaciones), y descripción (Lehner, 1996). Un catálogo será calificado como etograma cuando se considere que se aproxima al repertorio conductual completo de un animal (Carrillo-García *et al.*, 2005). El tamaño del repertorio variará por supuesto, de especie a especie, así como entre individuos dependiendo del sexo, edad y experiencia (Lehner, 1996). En la elaboración de un etograma se deben de utilizar criterios que otros observadores puedan comprender fácilmente.

Por la condición en que se encuentra la especie es de valor práctico para su conservación el conocimiento de su etología reproductiva, específicamente el cortejo y la cópula. En algunos mamíferos, durante el cortejo del macho, se observan aproximaciones por detrás y/o por el flanco, levantamiento de patas, cabeza contra el piso (Ungerfeld, 2002), y agresiones contra otros machos. Los rumiantes se caracterizan por la búsqueda de la hembra en celo, siendo uno de sus primeras conductas de contacto el flehmen, luego de lamer y olfatear la vulva u orina.

En trabajos preliminares en venado de campo se han documentado los siguientes comportamientos: atención a la orina, flehmen, aproximaciones con olfateo y lamido de región ano-genital, agresiones hacia otros machos, persecución ardua a la hembra con cuello estirado (Frädriich, 1981; González-Sierra, 1985), y seguir bajo y ostentar (Verdier, 1989). La descripción más completa del comportamiento de cortejo que existía hasta el momento, ha sido reportado por Verdier (1989) en un trabajo realizado en *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis* en vida silvestre, pero no existen descripciones del comportamiento sexual completo, incluyendo la cópula. Para los estudios de comportamiento animal se utilizan técnicas de aproximación específicas. Una de ellas, por la que se optó en el presente estudio, es el muestreo focal que consiste en registrar el

comportamiento de un individuo durante un intervalo continuo de tiempo. En este tipo de muestreo se realiza un registro continuo durante los intervalos de tiempo que se hayan determinado para las diferentes sesiones de observaciones (Galindo y Orhiuela, 2004). Con esta premisa, nos planteamos como objetivos realizar un etograma del comportamiento de cortejo, de monta, y describir las características y la secuencia de las actividades de monta en venado de campo.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la ECFA. Debido a que estos animales estaban acostumbrados a la proximidad humana fue posible ingresar a los encierros donde se alojaban los mismos sin interferir con su comportamiento normal. Se realizaron observaciones focales de cada uno de los machos que se encontraban en contacto con hembras diariamente durante por lo menos 5 a 20 minutos dos veces en la mañana y dos en la tarde durante la estación de mayor actividad sexual (febrero-mayo). Se consideró como la mañana (am) entre las 8.00 y las 11.00, y la tarde (pm) desde las 16.00 a las 19.00 horas. Dichos muestreos fueron realizados por tres observadores mediante observación directa o a través de binoculares, siempre manteniendo una distancia mayor a los 4 m con el fin de no provocar modificaciones en el comportamiento normal. Se registraron todos los comportamientos realizados por el macho en dichos períodos, contándose con el apoyo de videos y fotografías. Cuando se observaba una intensa actividad del macho hacia la hembra se continuaba con el muestreo por treinta minutos más. Al finalizar el estudio se totalizaron 86 días y 260 horas de registro. Además, se analizaron registros de montas hacia hembras en celo registradas en otros momentos del año que fueron filmadas.

Se consideraron patrones de comportamientos descritos previamente en otras especies como base para la realización de los etogramas (ciervo rojo: Clutton-Brock *et al.*, 1982; ovino: Banks, 1964; muflón: Mc Clelland, 1991). Se definieron las unidades comportamentales del cortejo y de la cópula, a partir del análisis de planillas, videos y fotografías del macho. También se analizaron la frecuencia y secuencia de cada una de ellas en cada período, registrando hacia qué hembra fue realizada.

Resultados y discusión

Cortejo

Se consideró el cortejo como el comportamiento que incluye todas las unidades presentes durante la búsqueda y persecución del macho a una hembra que está por entrar en celo. Se identificaron y describieron ocho unidades comportamentales:

- *Dirigirse hacia la hembra*: cuando la hembra estaba a más de 5 m, el macho iba lentamente hacia ella con el cuello y la cabeza en posición normal, pudiendo vocalizar.
- *Seguir olfateando*: cuando el macho estaba a menos de 2 m de la hembra se dirigía hacia ella al paso o al trote, con cuello y cabeza extendidos y a la altura de la cruz,

con la nariz cercana al piso y las orejas erectas. Se acompañó de una vocalización aguda y baja.

- *Seguir bajo*: a una distancia similar, el macho realizaba una carrera corta, con la cabeza baja paralela al piso (Figura 16A), acompañándose de una alta frecuencia de vocalizaciones. En ocasiones sacaba la lengua.
- *Persecución*: seguía a la hembra olfateando o corriendo (Figura 16B), vocalizando varias veces en tono alto.
- *Guardia*: el macho permanecía echado o parado (incluso pastando o rumiando) a una distancia de 1 a 2 metros, mirando en su dirección. La guardia duraba desde pocos minutos hasta más de una hora.
- *Flehmen*: curvaba el labio superior con la boca entreabierta manteniendo el cuello erguido (Figura 16C). Se observó luego de que olía y/o lamía orina del suelo, o mientras la hembra estaba orinando.
- *Olfateo de la región ano-genital*: acercaba el hocico a la región ano-genital, olfateando y/o lamiéndola (Figura 16D).
- *Ostentar*: cuando la hembra se detenía después de «perseguirla» o «seguirla olfateando», el macho también lo hacía pero de forma «ostentosa», levantando la cabeza y manteniendo el cuello erguido por encima de la cruz, con la mirada fija, golpeando el suelo con los miembros anteriores alternados de forma suave pero firme, pudiendo resoplar. Lo realizaba a distancias de no más de 2 m.

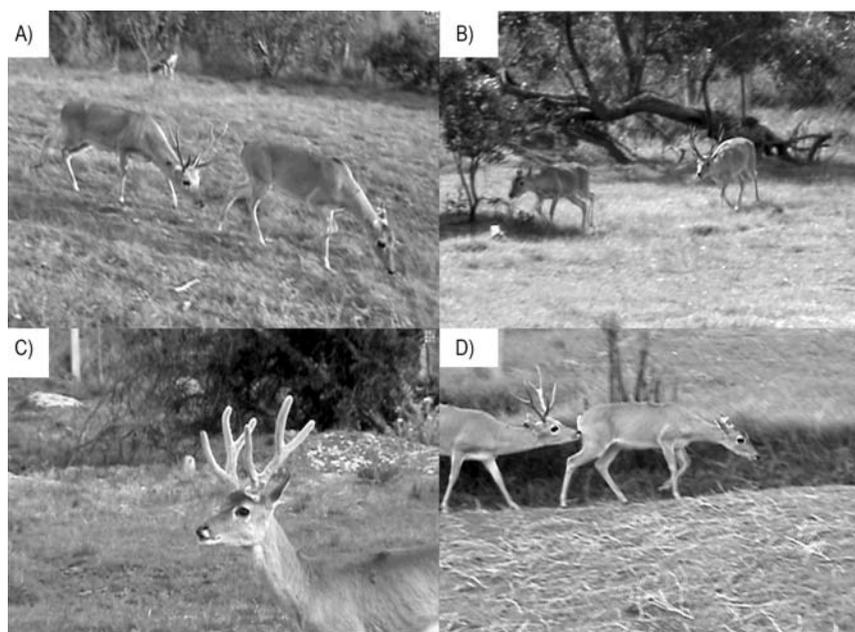


Figura 16. Comportamientos de cortejo en machos de venado de campo: A) Seguir bajo; B) Persecución; C) Flehmen; D) Olfateo de zona ano-genital.

Este estudio nos permitió por primera vez describir los comportamientos de cortejo en el venado de campo, en semicautividad, ya que la única descripción en esta especie fue realizada en animales en vida libre (Verdier, 1989), con las consiguientes diferencias.

La persecución es un comportamiento que ya había sido descrito en el ciervo rojo, wapiti, y en el propio venado de campo (Frädrieh, 1981; Clutton-Brock *et al.*, 1982; Asher *et al.*, 1997). A la descripción de este comportamiento, estos autores le agregan la posición erecta y baja del cuello, y los movimientos de lengua. Sin embargo, en nuestras observaciones, durante la persecución el macho mantenía la cabeza y cuello en posición normal, y no observamos movimientos de la lengua durante las persecuciones ni en el seguir olfateando. De acuerdo a ello, el cuello estirado fue tomado como parte del seguir olfateando y/o seguir bajo.

La persecución ha sido reportada en algunos pequeños rumiantes, como los ovinos de piedra (*Ovis dalli storei*), aunque no ha sido observada en otros como los muflones (*Ovis gmelini musimon*) (Mc Clelland, 1991). Esta diferencia, además de las propias características de la especie, podría estar relacionada con el tipo de hábitat en que viven. Mientras que los ovinos de piedra habitan en montañas, los muflones lo hacen en terreno abierto, por lo que la persecución podría ser necesaria para mantener contacto visual de las hembras. El venado de campo en libertad habita las praderas, por lo tanto tendría una buena visión de las hembras sin necesidad de perseguirlas. En nuestro estudio, los encierros se encuentran provistos de árboles y arbustos que podrían dificultar la visión y seguimiento de la hembra, lo que podría explicar la alta frecuencia con que fue observado el comportamiento. También la presencia continua de las hembras, en un espacio limitado, podría implicar un estímulo hacia los machos, provocando la persecución y cortejo en forma continua, a pesar de que las hembras no estuviesen en celo.

Seguir olfateando se diferencia de seguir bajo por la distancia en que se encuentra el macho de la hembra cuando realiza dichos comportamientos. Verdier (1989) ya planteó esa diferencia de distancia cuando describió las unidades: dirigirse hacia la hembra (se presenta cuando el macho está relativamente lejos de la hembra), seguir bajo (macho más próximo a la hembra) y dirigirse con cabeceo como una unidad intermedia entre las dos anteriores. A nuestro entender esta última unidad correspondería al seguir olfateando. El comportamiento de seguir bajo podría tener como objetivo un acercamiento más directo a la zona ano-genital de la hembra, y poder acercarse a ella de forma persuasiva, sin producir una reacción agresiva. A diferencia nuestra, en que registramos una alta frecuencia de vocalizaciones durante dicho comportamiento, Verdier (1989) no las registró, pero consideró que pudieron haber pasado desapercibidas dada la lejanía de las observaciones.

Encontramos que la ostentación incluye la alternativa de los movimientos de las patas delanteras. Éstas son flexionadas lentamente, mantenidas así durante unos segundos en el aire y, a continuación, extendidas rápidamente, dando golpes al suelo con violencia. Este movimiento se realizó alternativamente con ambas patas delanteras. Frädrieh (1981) describió un comportamiento similar al reportado por Verdier (1989): observó

que cuando la hembra se mantiene quieta, el macho se para a poca distancia estirando verticalmente el cuello y girando la cabeza unos 30°. Thomas *et al.* (1965) definieron una unidad comportamental similar, la «hard look», en el repertorio de unidades del comportamiento agonístico del ciervo cola blanca.

El olfateo ano-genital fue observado con alta frecuencia. En muflón también ha sido descrito como sniff rear (Mc Clelland, 1991), mientras que en la especie ovina doméstica ha sido descrito como nudging (Banks, 1964). También han confirmado las observaciones de Frädrieh (1981) que el macho olfatea y coloca su nariz en la orina de la hembra (olfateo de orina). En algunos casos hemos visto machos frotando suavemente el suelo donde la hembra acaba de orinar. Frädrieh (1981), Clutton-Brock *et al.* (1982), y Mc Clelland (1991), coincidieron en considerar que un posible objetivo del olfateo ano-genital es evaluar el estado fisiológico de la hembra, además de permitir que la hembra orine y así realizar el flehmen. El flehmen es un comportamiento común en los rumiantes, y es definido como un comportamiento exploratorio (Mc Clelland, 1991). Como se ha observado en otros rumiantes (Banks, 1964), el olfateo de orina y el flehmen son los únicos comportamientos que están muy asociados.

Durante el proestro, la persecución generó huidas por parte de la hembra, la que al sentirse hostigada por el macho termina echándose. El macho, entonces, se mantiene cerca ya sea echado o parado. Esta unidad denominada «guardia» tendría la finalidad de mantener a otros machos lejos o detectar los momentos de receptividad de la hembra. Un comportamiento similar también se ha reportado en muflones (Mc Clelland, 1991) y *Bos taurus* (conocido como hidden) (Galindo y Orhiuela, 2004). Posiblemente hubiera pasado desapercibida en otros trabajos ya que el macho puede pasar muchas horas cerca de la hembra, y la atención del macho es detectada cuando la hembra se mueve. Si no están identificados los machos y las hembras es difícil poder saber que el macho estuvo muchas horas cerca de una misma hembra.

A medida que progresa el cortejo, la hembra está más atenta al macho.

- Precópula, cópula, y poscópula

Se registraron doce períodos de aceptación de la monta, a partir de los que se describieron los comportamientos sincronizados realizados antes de la aceptación de la monta, durante la misma e inmediatamente de la monta. Estos fueron descritos en un etograma, llamado de precópula, del macho, y uno de la hembra.

- Etograma del macho

Acercamiento a la hembra: se acercaba a la hembra, generalmente por el costado, después de que ésta se quedara quieta.

- *Seguir bajo*: a una distancia menor a dos metros el macho realizaba una carrera corta, con la cabeza baja paralela al piso, acompañándose de una alta frecuencia de vocalizaciones, en ocasiones sacaba la lengua.
- *Persecución*: cuando la hembra corre, la seguía corriendo, vocalizando varias veces en tono alto.

- *Seguir olfateando*: cuando está a menos de 2 m de la hembra se dirigía hacia ella al paso o al trote, con cuello y cabeza extendidos y a la altura de la cruz, con la nariz cercana al piso y las orejas erectas. Se acompañaba de una vocalización aguda y baja.
- *Olfateo y lamido de cuerpo*: olfateaba y/o lamía diferentes partes del cuerpo de la hembra mientras ésta se mantenía quieta.
- *Olfatear región ano-genital*: acercaba el hocico a la región ano-genital de la hembra, olfateando y/o lamiéndola.
- *Flehmen*: el mismo comportamiento descrito para el cortejo; se observó luego de que olfateaba y/o lamía la región ano-genital, mientras la hembra orinaba, o luego de olfatear orina del suelo.
- *Ostentar*: parado, levantando la cabeza y manteniendo el cuello erguido por encima de la cruz, con la mirada fija, golpeando el suelo con los miembros anteriores alternados de forma firme, pudiendo resoplar. Lo realizaba a distancias de no más de 2 m.
- *Apoyo de mentón*: cuando la hembra estaba quieta, se acercaba por detrás y descansaba su mentón sobre la grupa de ella (Figura 17A).
- *Intento de monta*: subía parcial o totalmente sobre la hembra por el costado o por detrás, con apoyo del mentón sobre la grupa de ella, realizando movimientos de extensión y retracción de lengua, pudiendo acompañarse de la protrusión del pene, pero bajándose rápidamente, sin que hubiera penetración ni golpe de riñón.
- *Monta*: luego de acercarse a la hembra por el costado o directamente por detrás, apoyaba el mentón en la grupa de ella, mientras realizaba movimientos de extensión y retracción de la lengua, a medida que se sube sobre sus cuartos traseros. Realizaba el golpe de riñón mientras lamía o mordía el cuello de la hembra (Figura 17B). No se observó fácilmente el eyaculado. No resultó fácil identificar el golpe de riñón, pero en las ocasiones que sí se pudo hacerlo, se observó un conjunto de contracciones musculares abdominales, de alta frecuencia y baja amplitud, finalizando en algunas ocasiones, con un empuje hacia delante.

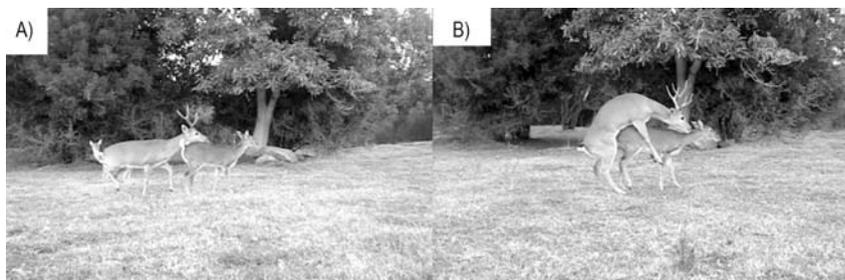


Figura 17. Comportamientos de cortejo del macho durante el período de aceptación de la monta: A) Apoyo del mentón; B) Monta.

- *Desmonta*: luego de la monta, el macho bajaba y quedaba quieto indiferente u olfateando la región ano-genital. Mantenía su cola curvada hacia arriba, mostrando la parte interna, de color blanca.
- *Elevación de cabeza*: parado dirigía la cabeza hacia arriba, y hacia el lado contrario de donde estaba la hembra. Si la hembra se le acercaba nuevamente girándola más hacia otro lado. Si la hembra se alejaba, se movía, la observaba y la seguía.

Como forma de acercamiento y persuasión a la hembra, también encontramos el olfateo y lamido del cuerpo. Clutton-Brock *et al.* (1982) y Asher *et al.* (1997) también describieron el lamido de cuerpo realizado por el macho cuando la hembra se encuentra en quietud. Mc Clelland (1991), lo denominó «twist» en muflones. No observamos los acercamientos laterales, muy comunes en ovinos (Ungerfeld y González-Pensado, 2009), ni encontramos reportes en otros cervidos. Éste es conocido en el ovino doméstico como «nudge» (Banks, 1964), o «foreleg kicks» en muflones (Mc Clelland, 1991). Mc Clelland (1991) lo relacionó más con el comportamiento agonístico que con el de cortejo. Para que se dé este comportamiento debe existir un contacto con la hembra, el que solo es permitido por ésta durante el período de mayor receptividad. Podría ser comparado con el olfateo y lamido del cuerpo, pero no existe la «patada»; por lo tanto puede ser una variante del comportamiento de acercamiento lateral.

Cuando la hembra se encuentra receptiva, el macho apoya su mentón sobre su grupa, induciendo su quietud. En forma similar, las vacas que se encuentran sexualmente receptivas responden a la presión ejercida por el apoyo del mentón del toro (Hurnik, 1987).

Solo la hembra en celo permite la monta. El comportamiento de monta es similar al reportado en otros rumiantes. Definimos la monta con eyacuación cuando se producía el golpe de riñón, el que puede o no finalizar con un empuje hacia delante de la hembra, que incluso puede desplazarla unos pasos hacia delante. Esto es similar al criterio utilizado por Clutton-Brock *et al.* (1982), en que la eyacuación es identificada por un repentino empuje con sacudidas del cuerpo.

Luego de la monta, igual que en la mayoría de los mamíferos, el macho presenta un período refractario. Sin embargo, el mismo es muy corto, a diferencia de lo que visto en ciervo rojo y wapiti, en que el macho se aleja perdiendo interés por la hembra (Asher *et al.*, 1997). En otras especies de ciervo (Clutton-Brock *et al.*, 1982; Asher *et al.*, 1997), muflones (Mc Clelland, 1991) y en las ovejas (Banks, 1964) sucede algo similar.

- Etograma de la hembra
- *Correteo*: la hembra corría al lado del macho, con las orejas hacia atrás y la cola elevada, manteniendo el cuello hacia abajo y curvado. Se acercaba y alejaba del macho.
- *Orientación hacia el macho*: la hembra se acercaba, y olfateaba y/o lamía orejas, lomo, grupa u otra parte del cuerpo del macho, mientras éste se encontraba indiferente u ostentando; alejándose luego de forma lenta (Figura 18A). En simultáneo pudieron observarse golpes con la cabeza hacia el cuerpo del macho.
- *Exposición de vulva*: la hembra permanecía parada cerca del macho, con las orejas hacia atrás y manteniendo cola elevada y/o en movimiento, exponiendo la

vulva (Figura 18B). Si el macho lamía u olfateaba la zona, la hembra elevaba aún más la cola. Si el macho no se acercaba, ella giraba la cabeza y miraba hacia él.

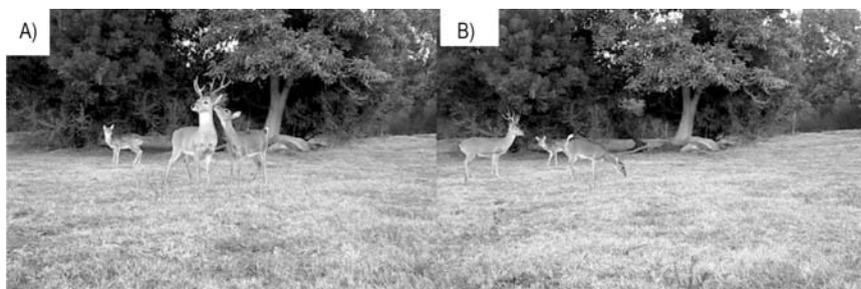


Figura 18. Comportamientos de la hembra durante el periodo de aceptación de la monta: A) Búsqueda del macho; B) Exposición de la vulva

- *Movimientos vulvares*: movimientos rítmicos de apertura y cierre de los labios vulvares, exponiendo el clítoris. Fueron realizados con la vulva expuesta orientada hacia el macho.
- *Quietud*: después de ser perseguida por el macho, o ir caminado, la hembra se detenía y mantiene parada quieta, con la cola baja.
- *Alejamiento*: la hembra se alejaba más de un metro del macho, caminando y deteniéndose con o sin exponer la vulva. También podía alejarse corriendo, lo que se continuaba con una persecución del macho.
- Luego de la monta, se observó que la hembra podía:
 - exponer la vulva
 - buscar al macho y corretear
 - alejarse indiferente.

La hembra demuestra interés hacia el macho, manifestándolo a través del correteo y la búsqueda activa del mismo. Si bien en trabajos anteriores se vieron esos comportamientos, no habían sido diferenciados en estas dos unidades, describiéndose el lamido por parte de la hembra del cuerpo del macho y el frotamiento de su mentón contra el flanco del mismo, reportándose incluso montas de hembras hacia el macho (Clutton-Brock *et al.*, 1982; Asher *et al.*, 1997). Esto último no fue observado hasta ahora en el venado de campo. En ovejas domésticas se observó que baja la cabeza y coloca las orejas hacia atrás (aplana contra la cabeza), y también empuja al macho con cabeceos (Banks, 1964).

En el ciervo rojo y el wapiti, Asher *et al.* (1997) describieron un comportamiento similar a la exposición vulvar que observamos en el venado de campo. La hembra da unos pasos hacia el macho con la cola elevada y moviéndola. Este comportamiento no es común en rumiantes, siendo comúnmente observado en los equinos, en además de la exposición vulvar se observan movimientos de los labios vulvares. Solamente en uno de los registros de venado pudimos observar este comportamiento.

- Secuencia de los comportamientos de pre-cópula, cópula y pos-cópula.

Sobre los doce registros de cópula, se determinó la frecuencia de comportamientos del otro individuo que se desencadenaban como respuesta a cada uno. En la Tabla 3 se presentan los comportamientos de las hembras que siguieron a los de los machos, y los de los machos que se desencadenan independientemente de la respuesta de las hembras, y en la Tabla 4 las de los machos que siguieron a las de las hembras, y la secuencia de las de las hembras que se desarrollan independientemente de los machos.

- Frecuencia de los comportamientos de precópula, cópula y poscópula.

Sobre los doce registros de cópula, se determinó la cantidad de interacciones en las que se observó cada comportamiento, tanto del macho como para la hembra (Tabla 5).

Tabla 3. Número de registros en que se observó cada comportamiento por parte de los machos y de las hembras.

Comportamiento	Número de registros en que se observó el comportamiento (%)
Machos	
Acercamiento	5 (41,7)
Olfateo y lamido de cuerpo	5 (41,7)
Olfateo ano-genital	8 (66,7)
Flehmen	2 (16,7)
Ostentar	4 (33,3)
Apoyo de mentón	8 (66,7)
Persecución	6 (50,0)
Seguir bajo	5 (41,7)
Seguir olfateando	6 (50,0)
Intento de monta	6 (50,0)
Monta	12 (100)
Indiferencia	11 (91,7)
Hembras	
Correteo	5 (41,7)
Búsqueda del macho	4 (33,3)
Exposición vulvar	9 (75,0)
Movimiento vulvar	1 (8,3)
Quietud	4 (33,3)
Alejamiento	8 (66,7)

Tabla 4. Comportamientos desencadenados como respuesta a los comportamientos del macho.

Continuación

Comportamiento del macho	Cantidad observada (O)/ con relación de continuidad (RC)	Comportamiento de la hembra	Frecuencia (%)	Comportamiento del macho independiente del la hembra	Frecuencia (%)
Acercamiento	O: 39 RC: 39	Exposición de vulva Quietud Camina Corre	7 (19,9) 27 (69,2) 4 (10,2) 1 (2,6)	Olfateo y/o lamido de cuerpo Olfateo región A-G Monta Intento de monta	10 (25,6) 12 (30,8) 9 (23,1) 4 (10,3)
Olfateo y/o lamido de cuerpo	O: 15 RC: 15	Quietud Orina Exposición de la vulva Camina Corre	8 (53,3) 1 (6,7) 2 (13,3) 2 (13,3) 2 (13,3)	Apoyo de mentón Indiferencia Intento de monta Toma orina	2 (5,1) 4 (26,7) 1 (6,7) 1 (6,7)
Olfateo de región ano-genital	O: 25 RC: 21	Exposición de la vulva Orina Camina Corre	12 (57,1) 2 (9,5) 1 (4,8) 1 (4,8)	Lame cuerpo Indiferencia Apoyo de mentón Ostenta	2 (9,5) 6 (28,6) 1 (4,8) 2 (9,5)
Flehmen	O: 2 RC: 2	Interacción con cría Exposición de la vulva	1 (50) 1 (50)	Intento de monta	1 (4,8)
Ostentar	O: 14 RC: 14	Búsqueda del macho Quietud Correteo Camina Alejamiento Exposición de vulva	3 (21,4) 3 (21,4) 1 (7,1) 4 (28,6) 1 (7,1) 2 (14,3)	Intento de monta Observa a hembra	1 (4,8) 1 (7,1)

Comportamiento del macho	Cantidad observada (O)/ con relación de continuidad (RC)	Comportamiento de la hembra	Frecuencia (%)	Comportamiento del macho independiente del la hembra	Frecuencia (%)
Apoyo del mentón	O: 26 RC: 26	Quietud Correteo Alejamiento	22 (84,6) 1 (3,8) 3 (11,5)	Monta Indiferencia Intento de monta Persecución	17 (65,4) 1 (3,8) 3 (11,5) 1 (3,8)
Persecución	O: 19 RC: 18	Quietud y exposición de vulva	10 (55,5)	Ostenta Olfateo ano-genital Seguir bajo Observa Camina	5 (27,7) 2 (11,1) 2 (11,1) 2 (11,1) 2 (11,1)
Seguir bajo	O: 16 RC: 15	Corre Interacción con ería Exposición de vulva	1 (5,5) 1 (5,5) 14 (93,3)	Seguir olfateando Vocalización Apoyo mentón Indiferencia Olfateo y lamido de cuerpo Olfateo ano-genital	2 (11,1) 1 (5,5) 1 (5,5) 1 (5,5) 2 (13,3) 5 (33,3)
Seguir olfateando	O: 11 RC: 11	Camina Exposición de vulva	1 (6,6) 6 (54,5)	Ostentar Apoyo mentón Olfateo y lamido de cuerpo Olfateo ano-genital Ostenta Parado Camina	1 (6,6) 7 (46,6) 1 (9,1) 2 (18,2) 2 (18,2) 2 (18,2) 1 (9,1)
		Corre	1 (9,1)	Seguir bajo Apoyo mentón Ostentar	1 (9,1) 2 (18,2) 2 (20)

Comportamiento del macho	Cantidad observada (O)/ con relación de continuidad (RC)	Comportamiento de la hembra	Frecuencia (%)	Comportamiento del macho independiente del la hembra	Frecuencia (%)
Intento de monta	O: 13 RC: 10	Exposición de vulva Alejamiento	3 (30)	Indiferencia Olfateo y lamido de cuerpo	6 (60) 1 (10)
Monta	O: 34 RC: 29	Quietud Búsqueda Camina	2 (20) 1 (3,4) 4 (13,8)	Persecución Observa otro macho Ostenta Olfateo ano-genital	1 (10) 1 (3,4) 1 (3,4) 6 (20,7)
Indiferencia	O: 77 RC: 77	Exposición de vulva Alejamiento Vocaliza Exposición de vulva Correteo Alejamiento Búsqueda del macho	19 (65,5) 4 (13,8) 1 (3,4) 35 (45,5) 9 (11,7) 6 (7,8) 21 (27,3)	Indiferencia Monta Persecución Olfateo y lamido de cuerpo Observa a hembra Ostenta Observa otro macho	14 (48,3) 2 (6,9) 4 (13,8) 1 (3,4) 2 (2,6) 8 (10,4) 6 (7,8)
		Quietud Otros*	1 (1,3) 5 (6,5)	Camina Come	1 (1,3) 1 (1,3)

*: La hembra se lame cuerpo, come, observa al macho.

Tabla 5. Secuencia de comportamientos desencadenados en machos y en hembras a partir de comportamientos de las hembras.

Comportamiento de la hembra	Cantidad observada (O)/ con relación de continuidad (RC)	Comportamiento del macho	Frecuencia (%)	Comportamiento de la hembra independiente del macho	Frecuencia (%)
Correteo	O: 8	Indiferencia	4 (50)	Alejamiento	2 (2,5)
		Persecución	2 (25)	Pastorear	2 (2,5)
	RC: 8	Alejamiento	1 (12,5)	Quietud	1 (12,5)
		La observa	1 (12,5)	Se lame el cuerpo	1 (12,5)
	O: 18			Quietud	1 (5,5)
Búsqueda del macho	RC: 8	Indiferencia	18 (100)	Alejamiento	3 (16,7)
				Exposición vulvar	1 (5,5)
	O: 47	Acercamiento	5 (10,6)	Búsqueda del macho	2 (4,2)
		Ostenta	3 (6,4)		
	RC: 47	Olf. y lam. cuerpo	2 (4,2)	Lo observa	3 (6,4)
Exposición vulvar		Seguir bajo	1 (2,1)		
		Seguir olfateando	4 (8,5)	Alejamiento	6 (12,8)
		Intento de monta	4 (8,5)		
		Monta	2 (4,2)	Pastorear	1 (2,1)
		Indiferencia	16 (34)		
		Olf. A-G	9 (19,1)	Se lame pierna	1 (2,1)
		Observa otro macho	1 (2,1)		
	O: 1				
	RC: 1	Indiferencia	1 (100)	Exposición vulvar	1 (100)

Comportamiento de la hembra	Cantidad observada (O)/ con relación de continuidad (RC)	Comportamiento del macho	Frecuencia (%)	Comportamiento de la hembra independiente del macho	Frecuencia (%)
Quietud	O: 24	Monta	11 (45,8)		
		Intento de monta	3 (12,5)	Lo observa	1 (42,)
	RC: 24	Indiferencia	6 (25)		
		Seguir bajo	2 (8,3)		
		Ostenta	1 (42,)	Exposición vulvar	1 (42,)
Alejamiento	O: 46	Olf. y lam. cuerpo	1 (42,)		
		Seguir olfateando	15 (32,6)		
		Indiferencia	12 (26,1)		
		Seguir normal	5 (10,9)		
		Persecución	5 (10,9)	Exposición vulvar	10 (21,7)
	RC: 46	Seguir bajo	5 (10,9)		
		Acercamiento	3 (6,5)		
		Observa otro macho	1 (2,2)		

Descripción sintética del comportamiento de cópula

Antes del celo se observó una intensificación de los comportamientos de cortejo, a los que se sumaron otros comportamientos característicos de la precópula, los que se identifican por un rol más activo por parte de la hembra. El macho seguía intensamente a la hembra en celo. En dicho seguimiento, hemos incluido tres tipos de unidades comportamentales: persecución, seguir olfateando y seguir bajo.

Algunos autores denominan a este seguimiento persecución (Frädriich, 1981; Clutton-Brock *et al.*, 1982; Asher *et al.*, 1997), lo que fue observado en el 50% de los registros de venado (Tabla 3). Asher *et al.* (1997), al describir la persecución en el ciervo rojo y en el wapiti entendieron que este comportamiento no se observa en animales en cautiverio debido a que el movimiento de los animales es acotado y existe un macho para varias hembras, por lo que puede aparearse muchas veces al día. En nuestro lugar de estudio, a pesar de estar en semicautiverio, y existir un macho para varias hembras, se observó dicho comportamiento de forma muy frecuente. La persecución finalizó en un importante número de casos con el macho ostentando, a menos de tres metros de la hembra. La hembra respondió a la persecución en más del 50% de los casos exponiendo la vulva, y esto se vio aún más cuando el comportamiento fue seguir bajo. Esto pudo haberse debido a que el macho al seguir bajo estaba más cerca de la hembra y ésta pudo visualizarlo mejor.

Durante la exposición de la vulva se registraron en una sola ocasión movimientos vulvares. Con esto podemos afirmar que si bien existe este tipo de comportamiento, desconocemos si es excepcional, ya que en los demás registros pudo no haberse visto debido a la distancia y posición en que se realizaban las observaciones. Tampoco está documentado para otros cérvidos, no pudiendo descartarse que la falta de registros sea por las dificultades prácticas de las distancias necesarias para obtener registros en la mayoría de los cérvidos.

La hembra podía exponer la vulva quieta o alejarse. Ante la exposición de la vulva el macho, en la mayoría de las veces, permaneció con la cabeza elevada o se acercó y olfateó y/o lamió la zona ano-genital. Este último comportamiento produjo una mayor exposición de la vulva por parte de la hembra (durante el olfateo ano-genital la hembra levantaba más la cola exponiendo mejor la vulva). El olfateo ano-genital indujo a las hembras a orinar, seguido por el lamido de la orina por parte del macho, en muchas ocasiones seguido del comportamiento de flehmen (se lo observó en dos ocasiones). Los comportamientos de olfatear la zona ano-genital y el flehmen también forman parte del cortejo, siendo observados con más frecuencia.

Cuando se alejaba la hembra, el macho respondía siguiéndola, olfateando en una cantidad importante de los casos. La manifestación del olfateo dependía de la distancia de alejamiento, ya que si esa distancia era menor a un metro lo que sucedía era seguir bajo, pero si era mayor a un metro entonces la seguía olfateando. Durante este seguimiento la hembra se mantenía pendiente de que el macho la siguiera, girando la cabeza y observándolo. Banks (1964) al describir el patrón comportamental de la oveja en celo,

reportó que ella mueve la cabeza y mira al macho. El alejamiento también inducía en el macho, la segunda unidad más vista, la elevación de cabeza. En una importante cantidad de casos la hembra mantenía la exposición de la vulva, o buscaba nuevamente al macho.

En todos los casos registrados se desencadenó un comportamiento retroalimentado, en el que la hembra se orientaba hacia el macho y éste elevaba cada vez más la cabeza, habiendo incluso correteado la hembra en la mitad de los registros, pero permaneciendo igual el macho con la cabeza elevada. En función de este continuo comportamiento del macho, la hembra se alejaba, aunque no más de 3 m, siendo entonces perseguida por el macho en el 25% de los casos. En resumen, la hembra se orientaba o correteaba a su lado, el macho no le prestaba atención, hasta que ella se alejaba, momento a partir del que el macho la seguía. La secuencia de persecución-exposición de vulva-elevación de cabeza-alejamiento se repitió en cortos periodos de tiempo, hasta que se desencadenaba la monta.

Otras hembras ruminantes (bovino), cuando se encuentran receptivas se caracterizan por un arqueamiento del dorso en respuesta a presión sobre la grupa, elevación de la cola y movimientos frecuentes de la misma, además de incrementar la frecuencia con que orinan (Galindo y Orihuela, 2004). En nuestros registros no hubo arqueamiento de lomo cuando el macho coloca su mentón sobre la grupa de la hembra, o quizás fue tan sutil que no se pudo notar en nuestras observaciones.

El acercamiento del macho a la hembra que estaba quieta o exponiendo la vulva frecuentemente fue seguido por un olfateo o lamido del cuerpo, manteniéndose la hembra en quietud. En ciervo rojo además del olfateo y lamido del cuerpo existe el lamido de la región preorbital (Clutton-Brock *et al.*, 1982), comportamiento que fue raramente observado en venado de campo y que está incluido en el olfateo y lamido del cuerpo.

En casi la mitad de los casos la monta se realizó luego de la quietud de la hembra, y en los casos restantes cuando la hembra expuso la vulva. La inmovilidad de la hembra es el estímulo más importante para provocar la monta (Galindo y Orihuela, 2004). El macho se acercaba, apoyaba su mentón (la hembra estaba receptiva si respondía, lo que se observó en casi todos los casos), y retraía y alargaba su lengua sobre el cuerpo de la hembra a medida que se subía sobre ella. Una vez encima realizaba el golpe de riñón mientras mordía o lamía el cuello de la hembra.

En 34 montas con penetración, la monta duró $5,0 \pm 0,5$ segundos. El período de aceptación de la monta fue corto, ya que solamente fueron aceptados $2,8 \pm 0,4$ montas por período de celo, siendo en once de los doce registros inferior a diez minutos. En el restante caso el primer celo de una hembra de siete meses, se observaron diez montas durante un período total de 180 minutos. La existencia de un período de receptividad tan corto ya había sido sugerido por González-Sierra (1985). Asher *et al.* (1997) también registraron en otros cérvidos montas muy cortas, de alrededor de cinco segundos. Este autor también se refiere a que cuando la hembra demuestra claros signos de estro se producen varias montas, pero cuando los signos son sutiles se observa una sola monta. Esto coincide con nuestras observaciones, ya que mientras algunas hembras se

dejaron montar una sola vez, una tuvo un celo sensiblemente más largo permitiendo más de diez montas.

En una sola ocasión se escucharon vocalizaciones en la monta, pero no fue posible identificar si fueron del macho o de la hembra. Sí es posible afirmar que al menos durante los períodos registrados, en las demás montas no se escucharon vocalizaciones vinculadas a la misma. En algunos registros sí hubo vocalizaciones, pero que no tuvieron relación con las montas, sino que se produjeron cuando se presenciaba otro macho cerca. En ocasiones también se vieron peleas entre el macho que estaba siendo registrado con un macho del encierro lindero.

En casi la mitad de los casos, luego de desmontar el macho se quedó elevando la cabeza, lo que podría corresponder a un período refractario. Este comportamiento de elevación de cabeza fue visto también luego del olfateo del cuerpo de la hembra (26,7%), olfateo de zona ano-genital (28,6%), correteo de parte de la hembra, orientación de la hembra hacia el macho, y alejamiento de la hembra (26,1%). Si bien en algunas ocasiones luego de la monta la hembra salía corriendo, lo que más se observó fue la exposición de la vulva, en el 65,5% de los casos. Ocasionalmente se observó a la hembra lamer el pene del macho luego de la monta (2 registros de 12, y comunicación personal de Jonny Briosso). También se ha observado después de la monta que el macho se lame el pene y/o la pierna, y la hembra se lame su pierna y/o vulva. Comportamientos similares fueron descritos por Verdier (1989) como unidades no específicas del cortejo.

En el 50% de los registros se observaron montas incompletas, correspondiendo a intentos de monta, por el flanco, sin intromisión del pene ni eyaculación. Usualmente hubo entre uno y tres intentos hasta lograr una monta con penetración (en la que se observó golpe de riñón).

En tres registros se pudo determinar que existió preferencia de la hembra hacia un macho, ya sea porque costeaba el alambrado lindero a otro encierro buscando al macho del mismo en desmedro del macho de su encierro (dos de los doce registros), o porque logró escapar de su encierro e ingresar a otro diferente al que vivía. En este último caso, en que era una hembra juvenil, de siete meses, la hembra fue reintegrada a su encierro cuando se la encontró en el del otro macho (el día previo al celo), repitiendo el escape al día siguiente y siendo observada apareándose con el macho de ese nuevo encierro, y no con el de su encierro (uno de doce registros).

No registramos montas entre hembras durante el período de celo, comportamiento que fue descrito en ciervo rojo y wapiti (Asher *et al.*, 1997), y en hembras de muflones (Mc Clelland, 1991).

A pesar del corto período receptividad de la hembra, hemos observado que el macho se mantiene cerca de la hembra y puede permanecer allí durante varias horas, realizando la «guardia». Comportamiento mayormente visto en el cortejo.

De Vos *et al.* (1997) señalan que la masturbación no ha sido registrada en ciervos. Sin embargo, en la ECFA observamos dos machos adultos masturbándose, mostrando fuertes movimientos pélvicos durante aproximadamente cinco segundos, mientras que

seguía a la hembra de forma normal. Esto ocurrió en enero y febrero. Uno de los machos se mantuvo en un encierro con hembras ciclando, y el otro estaba en un encierro solo con otros machos. En ninguno de los dos casos fue posible determinar si la masturbación terminó en una eyaculación.

7.2 Comportamiento agonístico de los machos

Introducción

Los comportamientos agonísticos son una forma de interacción social relacionada con la formación de la estructura social. La misma permite reducir al mínimo las agresiones físicas y facilita las relaciones entre los individuos de un grupo (Balph, 1979 citado por Senar, 1990). El venado de campo tiene una jerarquía social establecida y mantenida a través de comportamientos de agresión-sumisión (Jackson, 1985). El objetivo del presente trabajo fue realizar un etograma de comportamiento agonístico en machos de venado de campo.

Materiales y métodos

Se utilizaron dos grupos de seis machos, uno de animales adultos (cuatro a seis años) y otros de seis juveniles (dos a tres años). Se realizaron observaciones focales entre abril y diciembre. Se observó en forma semanal a cada grupo durante una hora en la mañana y otra en la tarde. Fue considerado como la mañana entre las 8.00 y las 11.00, y como la tarde entre las 16.00 y 19.00 horas. Al finalizar el estudio se totalizaron 72 horas de observación, 36 en los machos adultos y 36 en los juveniles.

Las diferencias a lo largo del período de muestreo, entre la mañana y la tarde, así como entre categorías fueron comparadas con el test de chi cuadrado.

Resultados

La mayor parte del tiempo los individuos mantuvieron una distancia mayor a 5 m entre ellos, excepto durante la alimentación, cuando gran número de interacciones agonísticas fueron observadas. Se registraron 349 ocurrencias de diez unidades comportamentales:

- *Presencia*: el movimiento de un macho causó el desplazamiento (alejamiento) de uno o más individuos.
- *Mirar*: un macho mantuvo la mirada fija en otro individuo (Figura 19A).
- *Dirigir astas*: apuntando las astas hacia otro individuo bajando la cabeza, pudiendo realizarse echado, de pie, caminando o corriendo (Figura 19B).
- *Embestir*: el animal golpeaba con las astas a otro individuo en el flanco o grupa. Frecuentemente ocurrió luego de «perseguir».
- *Contacto nasal*: con el cuello erguido, la nariz de dos machos tomaban contacto (Figura 19C).

- *Manotear*: utilizando uno de sus miembros anteriores, un macho golpeaba a otro individuo. Podía ser precedido por una corta carrera.
- *Boxeo*: erguido sobre los miembros posteriores un macho golpeaba a otro con los miembros anteriores agitándolos, pudiendo hacerlo después de «perseguir».
- *Trabar*: dos machos entrelazaban sus astas por segundos, para luego separarse. En general mantenían los miembros anteriores separados y extendidos, pudiendo ser precedido por «dirigir astas» (Figura 19D).
- *Pelear*: dos machos luego de «trabar» se empujaban, pudiendo mantenerse en el lugar, desplazarse en línea recta o girar, siempre sin separar las astas; podía durar desde segundos a minutos, interrumpirse brevemente y retomarse.
- *Perseguir*: un individuo caminaba o corría detrás de otro causando su desplazamiento, pudiendo hacerlo «dirigiendo astas», dependiendo del tenor de agresión podía emitir vocalizaciones (resoplidos) (Figura 19E).

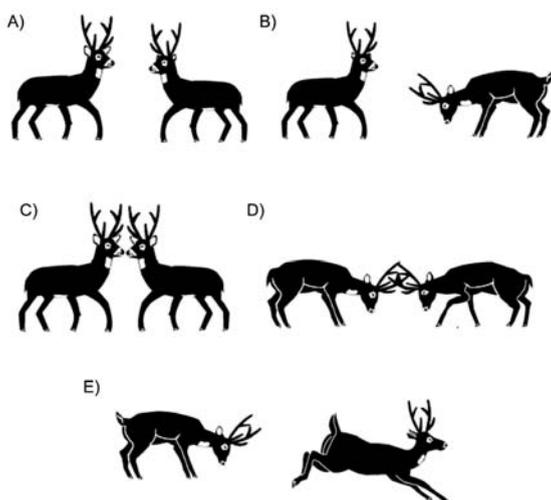


Figura 19. Comportamiento agonístico en machos de venado de campo: A) Mirar; B) Dirigir astas; C) Contacto nasal; D) Trabar; E) Perseguir.

Aunque escasas, también fueron observadas actividades de cortejo e intentos de monta entre los machos. En una ocasión fue observado un macho juvenil siguiendo a otro, y oliéndole la cola y la orina, para luego acercarse por detrás, lamerle la grupa, e intentar montarlo dos veces. La misma secuencia se repitió otras veces. En todos los intentos el macho que intentó ser montado solamente se apartó, sin desplegar otros comportamientos, y continuó pastando. Como parte de la actividad de cortejo entre machos, los mismos también se lamían y olían los hocicos. Entre machos adultos se observaron persecuciones con comportamientos de cortejo, como seguir bajo y vocalizar.

En ninguna ocasión se comprobó la monta entre los machos.

Discusión

La distancia mayor a 5 m mantenida entre los individuos es similar a la «distancia crítica» de aproximadamente 3 m descrita por Altmann (1960) en *Cervus canadensis* y *Alces alces*. En la ECFA, observamos comportamientos similares a los descritos en la naturaleza para dominar a otros individuos.

La «presencia», así como «mirar» realizado por un macho provocaba el alejamiento de otro individuo y la sumisión sin interacción física. En consecuencia, ambos

comportamientos son comúnmente observados en grupos establecidos de machos, aunque también ha sido observado hacia hembras y machos juveniles. En ciervo rojo fue descrito un comportamiento similar al observado denominado «presencia» (Clutton-Brock *et al.*, 1982). Comportamientos similares a «mirar» y «dirigir astas» fueron reportados en *Odocoileus virginianus texanus* (Thomas *et al.*, 1965). «Dirigir astas» puede ser realizada junto con «perseguir», e inclusive ocurrir «embestir». Esta última unidad es similar a la descrita en por ciervo rojo (Recuerda y Arias de Reina, 1980). «Perseguir» es realizado por machos adultos hacia otros machos, machos juveniles e inclusive hacia hembras adultas y también coincide con lo descrito en ciervo rojo (Recuerda y Arias de Reina, 1980; Clutton-Brock *et al.*, 1982).

En semicautiverio, al igual que en vida libre (Jackson, 1985) «perseguir» fue el comportamiento más comúnmente observado. El «contacto nasal» también fue realizado en la mayoría de las interacciones sociales. Ha sido sugerido que este comportamiento estaría relacionado con la identificación entre individuos (Jackson, 1985; Langguth y Jackson, 1980).

Observamos que cuando un macho «manoteaba», el individuo subordinado escapaba rápidamente. Clutton-Brock *et al.* (1982) describieron que en ciervo rojo este comportamiento ocurre frecuentemente luego de «perseguir», lo que coincide con lo observado en venado de campo. Similarmente, en *Cervus elaphus* dos machos enfrentados y parados sobre sus miembros posteriores se golpeaban con los miembros anteriores (Clutton-Brock *et al.*, 1982). Aunque no observamos este comportamiento en machos adultos, si fue observado en un macho criado artificialmente (5 meses) hacia otro macho juvenil. Jackson (1985) también observó este comportamiento en un macho criado artificialmente, pero realizado hacia quien lo crió. Una unidad comportamental similar, denominada «boxeo», coincide con lo descrito en ciervo rojo (Burek-Hardt, 1958 citado por Recuerda y Arias de Reina, 1980).

El «sparring» y la «pela» fueron observados más frecuentemente entre machos juveniles y no tanto entre machos adultos. Mientras que este comportamiento ha sido observado en machos jóvenes presentando astas con y sin felpa, en machos adultos fue más frecuentemente observado cuando estos presentan astas limpias. Jackson (1985) también observó que comúnmente los machos juveniles inician el sparring y el enfrentamiento contra machos adultos. De acuerdo con Verdier (1989) las peleas pueden ser divididas en tres estados: prólogo, transcurso y culminación. Durante el prólogo el agresor se aproxima al rival, generalmente utilizando «mirar» y realizando «contacto nasal». Jackson (1985) observó que los machos tocan suavemente la punta de sus astas, traban las mismas, empujan hacia delante y atrás, girando la cabeza a los lados y en círculos hasta por 3 minutos. Durante este período los machos se observan y empujan estando enfrentados. Luego de 3 minutos, es común que finalice el empujar y comienza «mirar» o «contacto nasal», para luego iniciar una nueva secuencia de trabar, empujar adelante y atrás y girar la cabeza a los lados y en círculos. Esta descripción coincide con las unidades observadas en cautiverio, denominados «trabar» y «pelear»

respectivamente. En ciervo rojo fue descrita una unidad comportamental similar a «trabar» (Recuerda y Arias de Reina, 1980).

A veces la pelea termina cuando los machos destraban sus astas y uno de ellos o ambos individuos se alejan del otro. Bianchini y Perez (1972) y Jackson (1985) reportaron que los individuos subordinados no son perseguidos por el dominante, aunque nosotros ocasionalmente hemos visto persecuciones. Comúnmente los individuos no se enfrentan de nuevo, aunque caminan lentamente, manteniéndose paralelos y alejados por 1 m, a lo largo de 10-30 m, «dirigiendo astas» y realizando «sparring» (Jackson, 1985), similarmente a lo descrito en *Dama dama* (Bartoš *et al.*, 2007) y *Cervus elaphus* (Clutton-Brock *et al.*, 1982). Nosotros también observamos caminatas similares a las descritas por Jackson (1985) entre machos que no se encontraban en contacto directo, aunque separados por tejido. Según Jennings *et al.* (2003) en *Dama dama* este comportamiento permitiría evaluar si continuar la pelea o finalizarla sin que sea afectado el orden jerárquico. En ocasiones, algunos machos retan al mismo macho u a otros cercanos. Como fue reportado en ciervo dama (Bartoš *et al.*, 2007), frecuentemente es difícil determinar quien es el ganador de la pelea.

Comúnmente los machos subordinados se alejan con las orejas hacia atrás y arriba o exponiendo el cuello (Jackson, 1985). Frädrieh (1981) observó que éstos se alejan del agresor con la cabeza baja y caminando lento. Posiblemente la ausencia de contacto físico de la mayoría de las unidades comportamentales así como el pequeño número de combates observados entre machos adultos contribuiría «a una baja frecuencia de peleas» y «disminuiría el riesgo de lesiones serias», como fue reportado por Mc Elliot *et al.* (citado por Bartoš *et al.*, 2007) en *Dama dama*.

En otros rumiantes la monta entre machos es frecuente (Ungerfeld *et al.*, 2007; Ungerfeld y González-Pensado, 2008), no siendo frecuente en cérvidos. Aunque escasas, en nuestros registros observamos intentos de monta, y comportamientos de cortejo dirigidos hacia otros machos, pero no se registraron montas entre machos.

En síntesis, en el presente trabajo fueron descritos los diferentes comportamientos relacionados a las confrontaciones agonísticas entre machos de venado de campo.

8. Comunicación química en el venado de campo

8.1 Comportamiento de marcación

Introducción

El comportamiento reproductivo, así como todo el comportamiento social, es muy influido por las señales químicas en los rumiantes, incluyendo a los cérvidos (ver revisión: Gosling, 1985). En este sentido, las secreciones glandulares son de gran importancia en la comunicación química intraespecífica, como interacciones sociales generales, comportamiento agonístico, maternal y de alarma (Müller-Schwarze, 1987). Las principales secreciones utilizadas por los cérvidos para enviar señales químicas son la orina, las heces, la saliva y secreciones provenientes de glándulas cutáneas especializadas (Gosling, 1985). La marcación es frecuentemente dirigida hacia el ambiente, su propio cuerpo o el de otros individuos. Para ello, diferentes estrategias son utilizadas por las distintas especies.

La morfología y posible función de marcación de las glándulas cutáneas del venado de campo fueron descritas por Langguth y Jackson (1980). La glándula preorbital está situada en una depresión cercana al hueso lacrimal y se extiende a través del ángulo anterior del ojo. La glándula tarsal está ubicada en la cara medial de la articulación tarsal, y la glándula interdigital entre las primeras falanges de los dos dedos principales de los miembros posteriores. En el presente trabajo hemos intentado resumir el origen de las señales químicas, así como los principales comportamientos involucrados en la transmisión y recepción de las mismas en el macho de venado de campo. Además, determinar si existen diferencias en los patrones de marcación entre machos adultos y juveniles de esta especie.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó con dos grupos de 6 animales, uno de machos adultos y otro de juveniles, con 4 a 6 años, y 1 a 2 años de edad respectivamente, alojados en encierros separados. Se realizaron observaciones focales (Martin y Bateson, 1993; Lehner, 1996) en forma semanal, durante una hora en la mañana (8.00-11.00) y otra en la tarde (16.00-19.00) entre abril y mayo (estación reproductiva). Se realizó un etograma para los comportamientos de marcación, y se comparó con el test de chi cuadrado la frecuencia de cada comportamiento utilizada por los machos de cada categoría.

Resultados

Fueron registrados 199 eventos de marcación, 128 realizados por machos adultos y 71 por individuos de la categoría juveniles. Los comportamientos de marcación realizados por los machos fueron los siguientes:

- *Refregar astas*: mediante sacudidas de la cabeza los animales frotaban la punta de las astas contra arbustos y pastos (Figura 20A).
- *Refregar base de astas*: con movimientos de la cabeza hacia arriba y abajo, friccionaban la base de las astas contra troncos de árboles y postes. Lo realizaba simultánea o alternadamente con ambas astas (Figura 20B).
- *Marcación ocular*: apoyaba y frotaba hacia arriba la glándula ocular contra ramas u hojas.
- *Marcación digital*: manteniendo el cuello por debajo de la cruz y levantando la cola, raspaba el suelo con una extremidad delantera, deslizándola hacia atrás varias veces. Pudo repetirse utilizando el otro miembro.
- *Orinar*: orinaba separando los miembros posteriores y bajando la pelvis. Posteriormente podía oler y/o lamer el suelo, el pene y realizar flehmen.

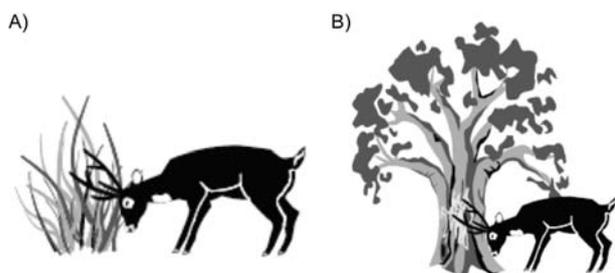


Figura 20. Comportamiento de marcación en machos de venado de campo: A) Refregar astas; y B) Refregar base de astas.

El número de unidades de marcación realizadas no fue diferente entre ambas categorías. Sin embargo, la frecuencia de uso de las unidades fue diferente entre adultos y juveniles ($P < 0,01$). La frecuencia de «refregar base de astas» fue mayor en juveniles (28,5 vs. 11,7%, $P < 0,003$). Por otra parte la frecuencia de «orinar» (37,3 vs. 25,7%) y «marcación ocular» (24,1 vs. 12,8 %) tendió a ser mayor en adultos que en juveniles

($P = 0,08$ y $P = 0,051$, respectivamente). La frecuencia de «refregar astas» y «marcación digital» no fue diferente entre ambas categorías (24,9 vs. 30,0%, y 2,3 vs. 4,3% para adultos y juveniles, $P = 0,49$, y $P = 0,46$, respectivamente).

Discusión

Las observaciones realizadas nos permiten reportar el comportamiento de marcación de los machos de venado de campo. A pesar de que los individuos de ambos sexos poseen las mismas glándulas cutáneas (Langguth y Jackson, 1980 y observaciones propias), solamente los machos desarrollan comportamientos de marcación. Los mismos están asociados con tres de las glándulas cutáneas presentes en esta especie. Por tanto, es interesante especular con una posible regulación esteroidea, a través de los andrógenos, del comportamiento de marcación. Verdier (1989) describió el comportamiento de marcación del venado de campo en cautividad y en vida libre, coincidiendo en general con nuestras observaciones en la ECFA.

En ambas categorías fue frecuente observar «refregar astas». Los movimientos son realizados en serie, cada algunos segundos o unos pocos pasos. El mismo comportamiento ha sido descrito en *Odocoileus hemionus* (Lindsdale y Tomich, 1953 citado por de Vos *et al.*, 1997) y en *Cervus elaphus* (Clutton-Brock *et al.*, 1982). En venado de campo fue relacionado con situaciones de irritación del individuo (Gonzalez-Sierra, 1985) y con delimitación de territorio (Bianchini y Pérez, 1972). También fue sugerido que formaría parte del comportamiento agonístico de tipo visual, como ocurre en *Odocoileus* (Kucera, 1978), y de la comunicación química de la especie (Verdier, 1989). Altmann (1952) planteó que este comportamiento representa un estímulo erótico en *Alces alces*. Sin embargo Denniston (1956) consideró que refregar astas, igual que la masturbación, forman parte de la estimulación sexual del alce. Por otra parte, Darling (1937) señaló que en ciervo rojo europeo «refregar astas» es un estímulo auto-erótico.

Este comportamiento es comúnmente observado en ciervo cola blanca, donde cumpliría función en la marcación de territorio, pero además facilitaría la pérdida de la felpa de las astas (de Vos, 1967), y podría ser parte de una preparación fisiológica y comportamental previo a la época reproductiva (Kile y Marchinton, 1977). Aunque el venado de campo puede orinar luego de «refregar astas», no frota su cuerpo en la zona anteriormente marcada, como sí fue descrito en ciervo rojo (Clutton-Brock *et al.*, 1982).

«Refregar base de astas» fue anteriormente reportado solamente en machos con astas sin felpa (Jackson, 1985). Este comportamiento afecta zonas de los árboles que quedan sin corteza, muy visibles, de aproximadamente 40 cm de largo (Frädrieh, 1981). La marcación frontal está asociada con «marcación digital» (Verdier, 1989). El ciervo de cola blanca es altamente selectivo de los árboles que utiliza durante este comportamiento, según la circunferencia del tronco, aroma, y rugosidad de su corteza (Kile y Marchinton, 1977). No hemos observado venados de campo utilizando postes o rocas como sustrato, como ocurre en ciervo rojo (Clutton-Brock *et al.*, 1982). El pelo de la zona frontal de la cabeza y de la base de las astas es más duro que el de las regiones alrededor de las mismas, e inclusive en las hembras la región correspondiente a la base de las astas está marcada por dos puntos blancos (Langguth y Jackson, 1980). Según estos autores esto sugeriría que la misma cumple una función relacionada a la comunicación química. En esta zona, los machos de ciervo cola blanca poseen mayor número y desarrollo de glándulas sudoríparas que las hembras, además de que allí ocurren cambios estacionales relacionados con la época reproductiva (Atkeson y Marchinton, 1982). Según estos autores, podrían existir además, diferencias según la posición jerárquica.

A diferencia de lo que observamos, los machos adultos de *Odocoileus hemionus* refriegan astas más frecuentemente que los juveniles, lo que constituiría una amenaza (Kucera, 1978). Sin embargo, a diferencia de las observaciones de Kucera (1978), nuestros registros fueron realizados en grupos en que solamente había machos de edades similares. Por otra parte, Müller-Schwarze (1972) plantearon que en ciervos que no vocalizan abundantemente, como es el caso del venado de campo, esta unidad sería

un indicativo del estado fisiológico del individuo, similar a la función que cumpliría la brama del género *Cervus*.

Machos mantenidos en encierros con hembras fueron vistos retando a otros machos, estando sus encierros separados por un corredor de un 1 m. Los comportamientos realizados fueron «refregar astas» y «refregar base de astas», mientras permanecían exactamente enfrentados uno del otro. Una situación similar fue reportada en reno (Espmark, 1964 citado por de Vos *et al.*, 1997).

La marcación ocular fue desarrollada con una de las glándulas preorbitales, pudiendo repetir este comportamiento con la glándula contralateral. En vida libre el sustrato utilizado es troncos de árboles (Verdier, 1989), aunque en la ECFA también fue observado sobre columnas de cemento. En la ECFA ambas categorías de machos utilizan este tipo de marcación menos frecuentemente que otras unidades. Como fue descrito en muchas especies de cérvidos (Müller-Schwarze y Müller-Schwarze, 1975), observamos que un macho con astas sin felpa es capaz de abrir el orificio externo de su glándula preorbital aproximadamente 1,5 cm de diámetro. La función atribuida a este comportamiento de marcación estaría relacionada con retar a otros machos a enfrentarse (Müller-Schwarze y Müller-Schwarze, 1975).

Tanto en cautiverio (observaciones propias) como en vida libre (Verdier, 1989) los machos de venado de campo realizan «marcación digital», manteniendo la cola erguida y curvada hacia craneal sobre su dorso. Frecuentemente orinan el suelo previamente marcado, resultando en un parche sin pasto, el que sin embargo no es fácilmente visible. Ambos comportamientos han sido descritos en alce y ciervo rojo (Geist, 1963 citado por de Vos *et al.*, 1967).

Los machos adultos y juveniles utilizan diferentes estrategias de marcación, lo que sugiere que existe un proceso de maduración en la transmisión de señales químicas por parte de los mismos. Esto abre perspectivas de interés en determinar si hay cambios en las secreciones utilizadas por los mismos durante el crecimiento. Otra explicación, considerando que nuestros registros se realizaron en machos que formaban parte de grupos de animales de edades similares, es que la forma de comunicarse varíe de acuerdo a los receptores hacia los que se trasmite la información química.

Concluimos que los machos de venado de campo utilizan cinco unidades de marcación (refregar astas, refregar base de astas, orinar, ocular y digital). Por otra parte, existen diferencias entre categorías en algunas de las unidades de marcación utilizadas.

8.2 Estudios preliminares de las secreciones sebáceas

Introducción

Los semioquímicos son señales químicas emitidas por un organismo (emisor) que portan información a otro organismo (receptor) capaz de percibirlas. Esas señales son transportadas o se desplazan por un medio, en el que se establece la comunicación entre organismo receptor y organismo emisor. Entre los semioquímicos, las señales

olfativas que llegan desde el emisor al receptor transportadas por el aire (medio de la comunicación) y que por lo tanto deben tener cierto grado de volatilidad constituyen un estímulo importante en la comunicación entre animales en general y en particular entre mamíferos (Whittle *et al.*, 2000; Müller-Schwarze, 2006).

En la naturaleza, en un contexto de verdadera comunicación, en el que las señales son evolutivamente ventajosas al emisor, esos estímulos pueden ser utilizados como feromonas o como alomonas. En el primer caso, se trata de señales cuyos receptores son miembros de la misma especie que las emite, y que son ventajosas para ambos individuos entre los que se establece la comunicación. En el segundo caso, se trata de señales beneficiosas para quien las emite, pero perjudiciales para los organismos receptores, los que suelen ser miembros de diferentes especies. Por otro lado, las señales que produce un emisor en un contexto de verdadera comunicación pueden ser «espiadas» por miembros de otras especies en su propia ventaja, constituyendo así una desventaja para quienes las emiten. Este último por ejemplo es el caso de estímulos utilizados por un depredador para encontrar a sus presas, o por ectoparásitos para encontrar a sus hospederos. Estos estímulos son emitidos por el emisor (presa-hospedero) sin estar direccionados a sus depredadores-ectoparásitos, y terminan por ser perjudiciales a los emisores. Este tipo de señal química entre miembros de diferentes especies es denominado kairomonas (Bergström, 2007).

En el caso de las feromonas, los mensajes que portan las señales son de muy diversa índole en el reino animal. Por ejemplo, las feromonas sexuales pueden informar acerca del estatus reproductivo del emisor, y por lo tanto estarán implicadas en la determinación desde un punto de vista ecológico del comportamiento de cópula entre ambos sexos; y desde un punto de vista evolutivo en la selección sexual que opera en la especie. Otro ejemplo de feromonas, lo constituyen las señales que portan información acerca de los territorios dominados por cierto machos, y cuya dominancia les da acceso a las hembras y por lo tanto redundará en un mayor éxito reproductivo. De hecho, los ejemplos de feromonas con diferentes funciones son aún más variados, y en mamíferos podrían por ejemplo estar implicadas en el establecimiento de los lazos madre-cría (Poindron *et al.*, 1988), la formación de la estructura de grupos sociales, y su organización (Passanisi y Mac Donald, 1990), etcétera. A pesar de que la investigación en feromonas ha sido una fuente muy prolífica de estudios por ejemplo en insectos, en otros taxones de animales, y especialmente en mamíferos, la información acerca de comunicación establecida por medio de feromonas es bastante escasa. De hecho, a pesar de existir numerosos estudios en la materia, en muchos de ellos se investigan secreciones en forma aislada que podrían estar implicadas en comunicación entre con-específicos, sin establecer la funcionalidad real mediante el uso de ensayos en los que el detector sea el mamífero en el que se está intentando describir la funcionalidad de una determinada molécula o mezcla de moléculas. Por el contrario, se suelen hacer inferencias indirectas entre la química descrita y los comportamientos observados. Como lo estableció Burguer (2005): «Solamente en unos pocos compuestos o mezclas de compuestos se

ha demostrado claramente que sean feromonas de mamíferos». Este autor señala justamente a la dificultad de realizar bioensayos con mamíferos (comparado con insectos) como una de las principales razones para la deficiencia en la información certera de comunicación por medio de feromonas en mamíferos.

A su vez, además de que las feromonas establecen comunicación entre miembros de la misma especie, produciendo una respuesta en el receptor de la señal, esta respuesta puede ser del tipo comportamental o fisiológica. En el primer caso, se trata de lo que se denomina en inglés feromonas «releaser» cuya traducción, no aceptada por todos los expertos sería «elicitadoras». En el segundo caso se trata de feromonas cebadoras («primers»).

En los Ungulados (Arctodactyla), se han descrito —o inferido sin descripción de la estructura química— la existencia de secreciones con actividad de feromonas que pueden actuar tanto como releasers o como primers. Ejemplos de feromonas releasers, aparecen en la determinación de comportamientos de marcado propio o del territorio (por ejemplo: Bowyer *et al.*, 1994; Sun *et al.*, 1994), existiendo varias revisiones sobre feromonas de ungulados que pueden consultarse (Buttner, 1991; Whittle *et al.*, 2000; Burger, 2005). En el caso de feromonas primer se incluyen por ejemplo, aquellas con capacidad de cambiar el estatus reproductivo (por ejemplo: Bowyer *et al.*, 1994; Pickard *et al.*, 2003; Burger, 2005). Recíprocamente, también aparecen descripciones de cambios en la composición química de secreciones particulares que median comportamientos, con el cambio del estatus reproductivo (Jemiolo *et al.*, 1995).

A su vez entre los Ungulados, la familia Cervidae ha sido la fuente de variados estudios en lo que tiene que ver con comportamientos que podrían estar mediados por semioquímicos. Sin embargo, en muchos de estos estudios la química de los potenciales semioquímicos tampoco ha sido elucidada. Estudios pioneros en este campo se realizaron con el ciervo de cola negra, *Odocoileus hemionus colombianus* (sub familia, Odocoileinae), donde se describió la posibilidad de la existencia de feromonas de marcaje tanto en la orina, como en secreciones provenientes de glándulas cutáneas (Brownlee *et al.*, 1969; Müller-Schwarze, 1969, 1971a,b). Asimismo, se ha descrito la química de secreciones sebáceas y de orina y heces —utilizadas en automarcaje durante la estación reproductiva— (Lawson *et al.*, 2000), que podrían estar implicadas en comunicación entre con-específicos de acuerdo a registros de comportamientos particulares, pero sin una verdadera descripción de causa efecto en mucho de los casos. Un resumen de lo descrito puede encontrarse en la Tabla 6 en cuanto a potenciales semioquímicos con su función postulada. La Figura 21 ejemplifica algunos de los compuestos descritos en las diferentes especies, con la diversidad estructural de los mismos.

Tabla 6. Secretiones glandulares y excreciones implicadas en comunicación entre con-específicos en miembros de la familia Cervidae. (T: metatarsal; PO: pre-orbital; ID: interdigital). ND: no descrito; NR: no reportado

SUB-FAMILIA/ Especie	Glándula/Excreción	Tipos de compuestos implicados	Función postulada para la secreción/excreción	Referencias
GERVINE				
<i>Cervus elaphus</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)
	T			
	Orina	NR	Interacciones de dominancia entre machos adultos	Citado en Whittle <i>et al.</i> (2000)
			Interacción macho - hembra	
	Orina	Ácidos carboxílicos y derivados	Diferentes perfiles según edad y sexo,	Bakke y Figenschou (1990)
		Compuestos aromáticos	sin función propuesta	
<i>Cervus nippon</i>	T	Ácidos carboxílicos	ND	Wood (2003)
		Aldehídos		
		Alcoholes de cadena larga		
		Cetonas		
		Colesterol		
PO		Ácidos carboxílicos (grasos: C14-C18)	ND	Wood (2004)
		Ácido (Z,Z)-9, 12-octodecadienoico		
		Ácidos grasos, w-metilados (C13-C16)		
<i>Dama dama</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)
	T			
PO		NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)
	T			
HYDROPOTINE				
<i>Hydropotes inermis</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)

SUB-FAMILIA/ Especie	Glándula/Excreción	Tipos de compuestos implicados	Función postulada para la secreción/extracción	Referencias
MUNTIACINAE				
<i>Muntiacus muntjak</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)
<i>Muntiacus reevesi</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio) ¹	¹ Lawson <i>et al.</i> (2000) ² Barrette (1977)
ODOCOILEINAE				
<i>Alces alces</i>	Orina	Dimetilsulfona	Comunicación macho-hembra	Whittle <i>et al.</i> (2000)
<i>gigya</i>		Butirolacetona	(indicador honesto de «buena calidad» de machos)	² Bowyer
		<i>p</i> -Cresol	Bioensayado con esponjas ofrecidas a hembras ¹	¹ Miquelle (1991)
		Ácido benzoico		
		Lupanina (tentativo)	Indicadores de estro de las hembras y feromonas	
		Esparteína	cebadoras de estro ²	
		Homólogos de tetrahidro-6-metilpironona y 2-nonen-4-ona		
		Alcoholes insaturados		
<i>Capreolus capreolus</i>	PO	NR	Identidad de olor estable en el tiempo (perfil individual propio)	Lawson <i>et al.</i> (2000)
	ID			
	T			
	Orina		Información sobre sexo, edad y estatus	Sokolov y Gromov (1993)
	ID		fisiológico (ID y Orina)	
	T		Perfil individual propio	
	Glándulas en cabeza		Especificidad de especie (Heeces)	¹ Carranza y Mateos-Quesada (2001)
			NR (MT)	
			Marca territorial (Gl. en cabeza) ¹	

SUB-FAMILIA/ Especie	Glándula/Excreción	Tipos de compuestos implicados	Función postulada para la secreción/ extracción	Referencias
<i>Capreolus pygargus</i>	Orina ID T Glándulas en cabeza	NR	Información sobre sexo, edad y estatus fisiológico (ID y Orina) Perfil individual propio Especificidad de especie (Heeces) NR (MT)	Sokolov y Gromov (1993)
<i>Odocoileus hemionus colombianus</i>	T ID	NR (E)-3-tridecen-2-ona (E)-4-tridecen-2-ona 2-tridecanona	Feromona de alarma Alomona (inhibidor de bacterias y hongos)	Wood <i>et al.</i> (1995a) Wood <i>et al.</i> (1995a,b)
	T	Lactona del ácido cis-4- hydroxydec-6-enoico	Media comportamiento agresivo hacia miembros foráneos a la manada	Brownlee <i>et al.</i> (1969)
<i>Odocoileus virginianus</i>	Orina Glándulas en cabeza ID	Alcoholes, aldehídos, furanos, cetonas, nitrilos, alkenos, alkanos, esteres tiólicos, disulfuros, compuestos aromáticos, cetales y aminas alkanos, arenos, aldehídos, cetonas, alcoholes alifáticos, terpenos, fenóles alkanos, arenos, aldehídos, cetonas, ácidos alifáticos, ésteres, pirroles, furanos y compuestos azufrados	Estatus social y marcaje territorial Estatus social y perfil individual propio Estatus social y marcaje territorial	Jemiolo <i>et al.</i> (1995) Miller <i>et al.</i> (1998) Gassett <i>et al.</i> (1997) Gassett <i>et al.</i> (1996)

SUB-FAMILIA/ Especie	Glándula/Excreción	Tipos de compuestos implicados	Función postulada para la secreción/extracción	Referencias
<i>Ozotaceros bezaaricus</i>	T ID PO	Compuestos azufrados Ácidos grasos Esteroides	NR	Langguth y Jackson (1980)
<i>Rangifer tarandus</i>	PO ¹ T ²	Esteroles (libres y esterificados) Ácidos grasos Triglicéridos		Este reporte (ver texto) ¹ Andersson <i>et al.</i> (1979) ² Andersson <i>et al.</i> (1975)
	ID ^{3,5}	Cetonas (4-heptanona y 2-metil-4-heptanona)		³ Andersson <i>et al.</i> (1979)
	Orina (referido en ¹)			⁴ Brundin y Andersson (1979) ⁵ Brundin <i>et al.</i> (1978)

Glándulas cutáneas como las tarsales, preorbitales, interdigitales y caudales han sido descritas en muchas especies de cérvidos. Sin embargo no todas ellas han sido implicadas en la producción de semioquímicos. Asimismo, la presencia de pelos especializados en el almacenamiento de compuestos con actividad de feromona, denominados osmetrichia, ha sido descrita en *Mazama gouazoubira* (sub familia, Odocoileinae) asociados a las glándulas interdigitales (Müller-Schwarze *et al.*, 1977). Sin embargo, estos pelos especializados no parecen estar generalizados, dado que no han sido hallados en especies relacionadas como *Mazama americana* (Ajmat *et al.*, 1999). Por otro lado, células secretoras, no necesariamente organizadas en una glándula en particular podrían estar implicadas en la producción de semioquímicos. En algunos casos se ha postulado que tal tipo de actividad podría estar asociada a la felpa de las astas, las que estarían implicadas en la distribución de las feromonas (Bubenik, 1999), o a secreciones apócrinas (Gassett *et al.*, 1999). Por último, las secreciones utilizadas como semioquímicos por cérvidos, podrían no estar originadas en el propio metabolismo, sino que por simbiontes —flora microbiana normal— asociados, los que se han observado varían con la edad y sexo en el caso de *O. virginianus* (Gassett *et al.*, 2000; Alexy *et al.*, 2003).

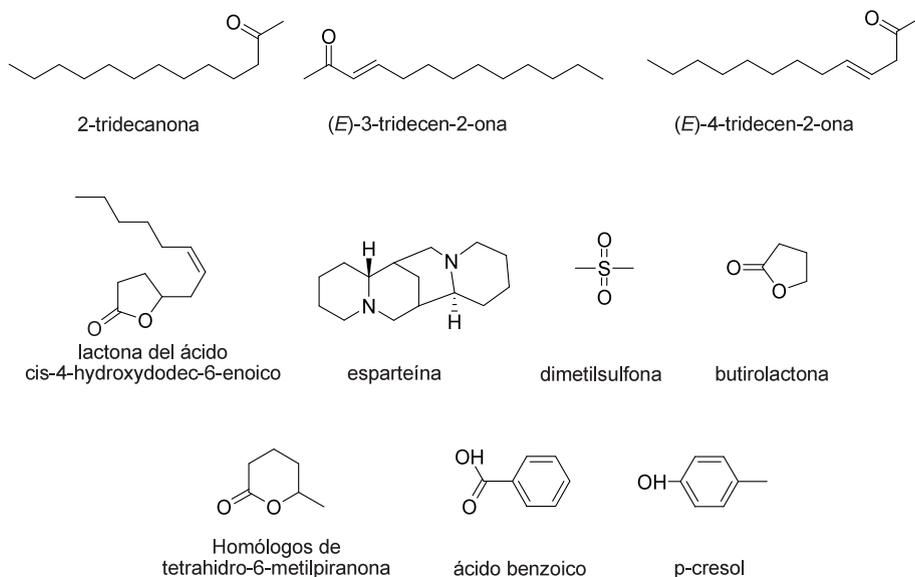


Figura 21. Diversidad estructural de algunas de las moléculas descritas como potenciales semioquímicos en miembros de la familia Cervidae.

En la Tabla 6 se puede observar que únicamente en un cuarto de las 47 especies reconocidas en la familia se han reportado estudios relacionados con la presencia de semioquímicos. De hecho, parece no haber habido estudios en cuanto a la química de las secreciones sebáceas en miembros de los géneros *Axis*, *Elaphurus*, *Megaloceros* (Cervinae); *Elaphodus* (Muntiacinae); *Hippocamelus*, *Mazama* y *Pudu* (Odocoileinae).

Si bien la información disponible actualmente en cuanto a los posibles semioquímicos que operan en los cérvidos no es muy abundante, en la Tabla 6 se puede observar que no solo glándulas cutáneas serían los productores de las mismas sino también excreciones como la orina y las heces podrían estar codificando este tipo de información. A su vez parece haber un patrón, en cuanto al tipo biosintético de los semioquímicos que se han seleccionado evolutivamente, ya que todos los compuestos descritos parecen derivar de las vías biosintéticas del acetato (los compuestos mayoritariamente descritos son ácidos carboxílicos —de cadena corta y grasos—, y aldehídos y alcoholes de cadena larga) (Dixon, 1999). La excepción a este patrón emergente, parece estar dado con los compuestos azufrados encontrados en especies de *Odocoileus* cuya biosíntesis debería justamente incluir la incorporación del azufre, y probablemente provenga de vías en las que los aminoácidos están implicados (Baker, 2005; Moniuszko y Sirko, 2008). A su vez, esta supuesta tendencia podría ser un artefacto del tipo de análisis (el que ha sido mayoritariamente análisis de compuestos volátiles) que se ha utilizado en las investigaciones hasta ahora reportadas para estudiar potenciales semioquímicos. Por otro lado la aparición de compuestos del tipo cetónico en varias especies podría estar relacionada al catabolismo lipídico que naturalmente debería encontrarse exacerbado en los machos en el momento del apareamiento, ya que estos entran en un período de baja ingesta de alimentos (Miller *et al.*, 1998; Whittle *et al.*, 2000; Apollonio y Di Vittorio, 2004). De hecho se ha propuesto que un aumento de compuestos cetónicos sería una señal honesta de los machos en cuanto a su calidad reproductiva (Whittle *et al.*, 2000). A su vez en algunas especies (i.e. *Cervus*, *Alces*) aparecen metabolitos del tipo aromático los que simplemente podrían ser el modo de excreción de catabolitos originados en la degradación de la celulosa. La presencia de otro tipo de metabolitos como alcaloides del tipo de la esparteína en *A. alces giga*, estaría justificada por lo ingerido en la dieta ya que estos alcaloides aparecen en fabáceas que podrían ser parte de la dieta normal (Miquelle, 1991; Bowyer *et al.*, 1994; Whittle *et al.*, 2000).

En el caso particular del venado de campo, tanto machos como hembras presentan glándulas cutáneas incluyendo la preorbital, la tarsal, la interdígital, así como existen otras zonas cutáneas con actividad secretora, como en la base de las astas (Langguth y Jackson, 1980). Los machos utilizarían las secreciones de estas glándulas en una variedad de comportamientos de marcado, incluyendo sustratos como árboles, ramas, pasturas y superficies inanimadas (ver sección 8.1). Este tipo de comportamiento ha sido descrito para muchas otras especies de cérvidos, como se resume en el trabajo de Lawson *et al.* (2000).

El presente estudio tuvo como objetivo primario establecer una metodología de estudio químico de las secreciones sebáceas de *Ozotoceros bezoarticus* con el fin de poder describir químicamente tales secreciones. Una vez establecida esta metodología, se pretende estudiar si la química de las secreciones sebáceas en lo que tiene que ver con los compuestos volátiles presenta variabilidad. El estudio se centró en componentes volátiles, por ser justamente estos los que tienen mayor capacidad de vaporización, son los que podrían eventualmente ser percibidos como olores por los demás miembros de

la especie, en los que eventualmente se producirá una respuesta. Con la descripción de la química de los compuestos volátiles hallados en el cuerpo de los venados, se pretende luego discernir si existen variaciones entre la emisión de las diferentes glándulas, y a su vez si hay variaciones correlacionadas con la edad, época del año, estatus social y reproductivo, con el fin último de evaluar la capacidad de los compuestos químicos descritos como potenciales semioquímicos tanto como feromonas, alomonas o eventualmente kairomonas. Por último cabe la posibilidad DE que los compuestos de las secreciones aquí estudiadas constituyan un tipo de perfil de identidad propio de cada individuo (análogo a una «huella digital»), de la misma manera que se ha descrito para otras especies (*Cervus elaphus*, *C. nippon*, *Dama dama*, *Muntiacus reevesi* y *Hydropotes inermis*) (Lawson *et al.*, 2000). Esta identificación de los individuos es importante no solo en los comportamientos de marcado tradicionalmente descritos, sino también en las interacciones agonistas establecidas entre miembros de la especie (Lawson *et al.*, 2000) descritas en la sección 7.2.

Materiales y métodos

Colecta de muestras

A los efectos de elucidar la química de las secreciones sebáceas provenientes de machos de venado de campo, se realizaron dos tipos de muestreos, ambos sobre los animales anestesiados (ver Sección 10). En un primer caso (controles), se cortaron dos conjuntos de pelos de la nuca y de la grupa (cantidad aproximada 0,5 g) de los animales dormidos colectándolos en viales individuales de 4 mL. En el segundo caso, se tomaron muestras de los pares de glándulas tarsales, interdigitales posteriores y preorbitales como se describe a continuación (en todos los casos de secreciones glandulares, muestras de ambas glándulas fueron colectadas en forma separada también en viales individuales de 4 mL):

- a) Glándulas tarsales: se cortó previamente los pelos en la zona donde se hallan las glándulas hasta visualizar la secreción adherida a los pelos inferiores (Wood, 2003). Estos pelos se cortaron a ras de la piel, colectándolos directamente en un vial individual.
- b) Glándulas pre-orbitales: la secreción sebácea acumulada (fácilmente visible en la mayoría de los casos) se colectó mediante el uso de una espátula (Lawson *et al.*, 2000, 2001). Asimismo mediante el uso de una porción de advocat se colectó la secreción no visible a simple vista directamente en la salida de la glándula.
- c) Glándulas interdigitales: Se realizó mediante el uso de una porción de advocat insertándolo suavemente en el espacio interdigital donde se halla la salida de la glándula, y empujando distalmente sobre la zona en que se encuentra la glándula.

En todos los casos las muestras colectadas fueron mantenidas a -20° C hasta su extracción y posterior análisis.

Extracción de los componentes volátiles de las muestras

La extracción de todas las muestras se realizó en el propio vial donde fueron colectadas mediante el agregado de diclorometano y/o hexano (0,5 mL por vial). La extracción se realizó con agitación magnética (1000 rpm) por 2 h a temperatura ambiente, y las muestras para el análisis fueron tomadas directamente de los sobrenadantes de estos viales con micojeringas (Hamilton, 1 µl).

Análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS)

Los análisis de GC/MS fueron realizados mediante corriente total de iones (TIC) en un equipo Shimadzu QP 5050: Columna DB-5 (Alltech), 25 m, 0,32 mm; inyección splitless en diclorometano. Se utilizó la siguiente rampa de temperatura: 40°C (2 min) a 250°C a 10°C/min a 320°C (5 min) a 20°C/min, temperatura de inyector e interfase: 300°C. Para la elucidación estructural se realizó un análisis de índices de retención mediante la inyección de una mezcla estandarizada de hidrocarburos (C8 a C32 y C19). Los datos obtenidos fueron comparados con datos espectrales e índices de dos bibliotecas de datos: Adams (2007) y NIST-Wiley database (2000).

Resultados

En la Figura 22 se muestran los perfiles de GC/MS típicos de las secreciones provenientes de las diferentes glándulas muestreadas en un individuo adulto, aunque no se incluye el control de la grupa analizado, para facilitar la visualización ya que el mismo tuvo un perfil muy similar al control de nuca. En esta figura se observa que dichos perfiles presentaron diferencias entre sí, si bien en algunos casos se detectaron picos en común. En forma interesante, en el perfil del «blanco» de nuca se detectaron picos diferentes a los de cualquiera de las secreciones analizadas.

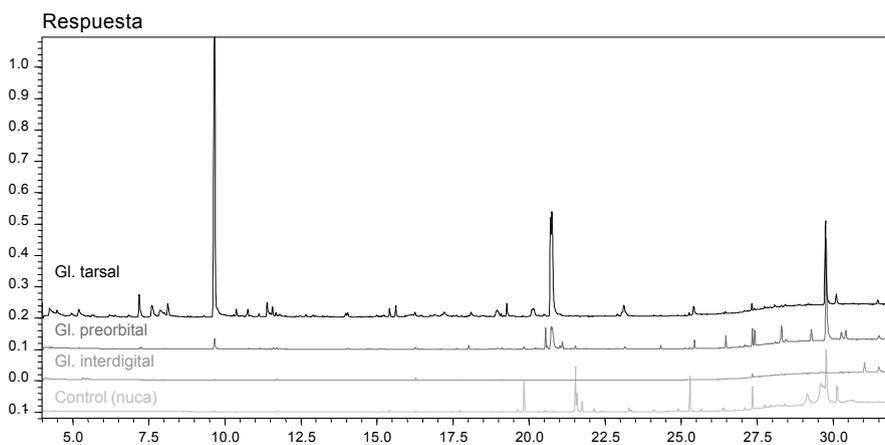


Figura 22. Trazas típicas de GC/MS de las diferentes secreciones extraídas de un individuo adulto.

Volátiles de la secreción proveniente de glándulas tarsales

Una traza típica del extracto diclorometánico de la secreción de una glándula tarsal se muestra en la Figura 23A. Hasta el momento se ha avanzado en la identificación tentativa únicamente de la clase de compuestos químicos presentes. La cuantificación correspondiente de dichos compuestos —como porcentaje interno de abundancia en base a las áreas de los picos— se presenta en la Tabla 7. En la secreción de las glándulas tarsales el compuesto mayoritario (50%) fue un mercaptano, constatándose a su vez la presencia de otros componentes azufrados (Tabla 7). Los siguientes grupos mayoritarios de compuestos los constituyeron los alcoholes de cadena larga (grasos, 27% en total) y los esteroides (11%).

Volátiles de la secreción proveniente de glándulas preorbitales

En la Figura 23B se muestra una traza de GC/MS del extracto diclorometánico de la secreción cerosa de las glándulas preorbitales. En este caso, se observa que el grupo de compuestos mayoritarios lo constituyeron los esteroides (Tabla 7), siendo entre ellos el colesterol el principal (40%). Los alcoholes de cadena larga fueron también en esta secreción un grupo importante (17%), siendo a su vez, los compuestos azufrados como los hallados en las glándulas tarsales muy minoritarios. A pesar de ser minoritario, se destaca el pico 7 del trazo B, el que fue identificado como un isómero de metilciclopentadecanona (la clase de compuestos a la que pertenece la muscona, una sustancia aislada de especies de ciervos almizcleros del género *Moschus* (Moschidae), que ha sido utilizada en perfumería por mucho tiempo.

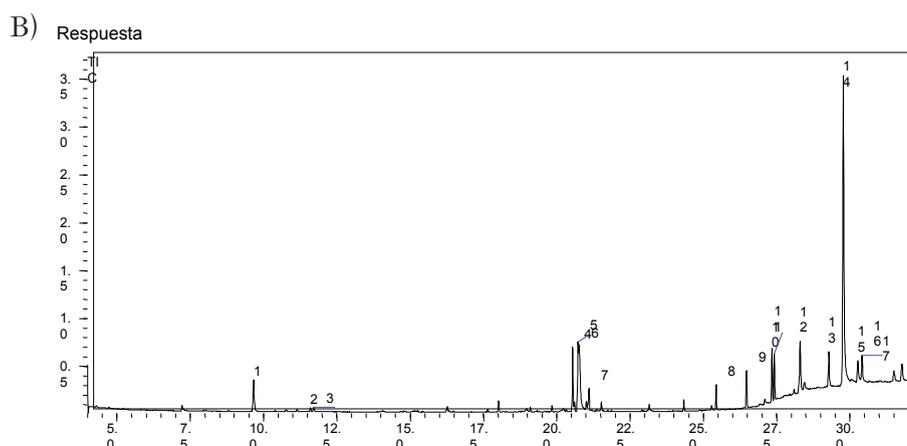
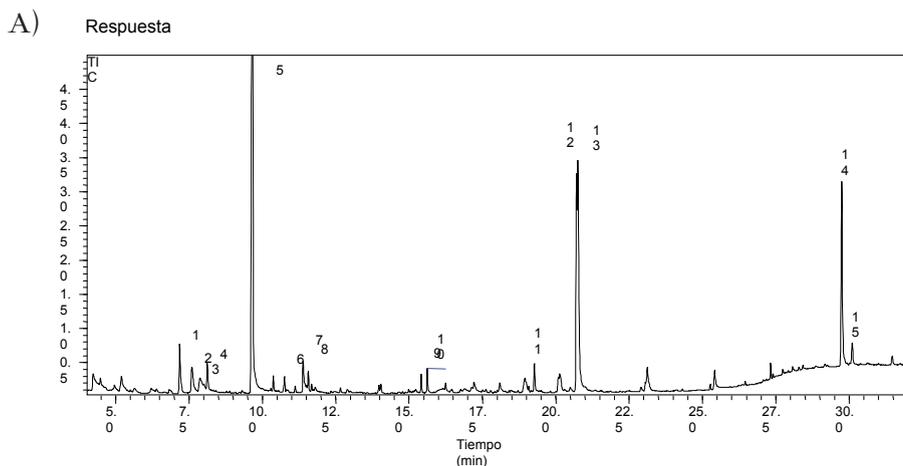


Figura 23. Trazado GC/MS típica de la secreción extraída de los pelos sobre las glándulas tarsales (A) y preorbital (B). Los números corresponden a los compuestos en los que se ha realizado una identificación preliminar de la clase de compuestos a la que pertenecen.

Volátiles de la secreción proveniente de glándulas interdigitales

Estas secreciones presentan muy pocos componentes volátiles (Figura 22), estando los detectados en esta secreción también presentes en las secreciones de glándulas tarsales y/o preorbitales.

Volátiles de los controles

En la Figura 22 se puede observar que el perfil de GC/MS del extracto diclorometánico de los pelos de la nuca presentó una serie de picos en tiempo de retención entre 19 y 25 minutos que no está presente en las restantes muestras. Estos picos fueron

identificados como los ésteres metílicos de ácidos grasos comunes (C₁₆, C₁₈ saturado e insaturados). El resto de los compuestos presentes fueron identificados como esteroides.

Tabla 7. Tipo de compuestos identificados en los extractos diclorometánicos de la secreción sebácea proveniente de las glándulas tarsales y preorbitales (s/i: sin identificación tentativa; ND: no detectado en la muestra).

Compuesto	Identificación tentativa	Glándula Tarsal		Glándula Preorbital	
		Picos Fig. 22A	Cantidad (%)	Picos Fig. 22B	Cantidad (%)
1	s/i	1	3	—	ND
2	butirolacotona	2	2	—	ND
3	menthylguanidine	3	1	—	ND
4	s/i	4	1	—	ND
5	mercapto	5	50	1	4
6	2,4-dimethylsulfolane	6	1	—	ND
7	acetomidofurano	7	2	—	ND
8	acetomidofurano	8	1	—	ND
9	s/i	—	ND	2	<1
10	isoquinolina	—	ND	3	<1
11	mercapto	9	1	—	ND
12	mercapto	10	1	—	ND
13	11-hexadecen-1-ol, acetate	—	ND	4	5
14	alcohol graso	11	1	—	—
15	alcohol graso	12	12	5	8
16	alcohol graso	13	14	6	9
17	cicloheptadecenona	—	ND	7	2
18	esterol	—	ND	8	2
19	esterol	—	ND	9	3
20	hidrocarburo insaturado	—	ND	10	4
21	esterol	—	ND	11	4
22	esterol	—	ND	12	6
23	esterol	—	ND	13	4
24	colesterol	14	10	14	40
25	esterol	15	1	15	3
26	esterol	—	ND	16	3
27	esterol	—	ND	17	2

Discusión, conclusiones y perspectivas

En esta etapa inicial de caracterización de posibles semioquímicos presentes en diferentes secreciones de glándulas cutáneas del venado de campo se ha logrado establecer una metodología de análisis que permitirá eventualmente la elucidación estructural de los compuestos volatilizables en los extractos de las muestras. Como se mencionara, este tipo de compuestos en el contexto de las interacciones ecológicas que se intentan describir son de suma importancia en lo que tiene que ver con el establecimiento de comunicación a distancia. A partir de esta caracterización química podrán luego realizarse bioensayos tendientes a demostrar la actividad de estas sustancias ya sea como feromonas (sexuales, de marcajes varias, mediadoras de relaciones agonistas, etcétera); ya sea como kairomonas (por ejemplo, como encuentran determinados ectoparásitos a sus hospederos). De hecho, en el contexto de kairomonas, es de destacar que durante el proceso de muestreo se observó en los venados la presencia de ectoparásitos «mosca piojos» —miembros de la familia Hippoboscoidea— en forma muy abundante en determinadas épocas y su ausencia en otras. Por tanto, es posible que la química de las secreciones de glándulas cutáneas esté mediando esta interacción.

Asimismo, se espera que al terminar la caracterización se esté en condiciones —con las muestras ya colectadas durante un año— de estudiar la variabilidad de la química en función de la individualidad, la etapa del ciclo reproductivo, edad, comportamientos, y marcadores bioquímicos.

Los resultados preliminares obtenidos hasta el momento indican que existe variabilidad en cuanto a las secreciones provenientes de diferentes glándulas, una característica importante a la hora de postular funcionalidad relacionada con actividad de feromonas y/o kairomonas que a su vez depende de la estacionalidad.

9. Características de las astas

9.1 Características, tamaño, y peso de las astas

Introducción

Si bien anteriormente hemos descrito el ciclo de astas del venado de campo, poco se conoce en relación con la morfología y tamaño de las astas. El venado de campo presenta astas de tamaño moderado, teniendo tres puntas de cada lado (Redford y Eisenberg, 1992), aunque se han observado animales de hasta ocho o nueve puntas (Jackson *et al.*, 1980). En la ECFA, se ha observado en forma consistente el siguiente patrón:

1. antes del primer año de edad, los machos tienen puntas primarias muy pequeñas, las que caen con 2-3 cm;
2. las astas del primer ciclo tienen dos puntas;
3. las astas de los posteriores ciclos tienen tres puntas.

Sin embargo, Frädrieh (1981) ha reportado que machos con altos niveles nutricionales pueden saltarse la fase de dos puntas. Pautasso *et al.* (2002) han mostrado las longitudes y circunferencias obtenidas a partir de dos astas de machos adultos que fueron encontradas en el norte de Santa Fe (Argentina).

Nuestros objetivos fueron:

1. describir la morfología y el tamaño de las astas recolectadas en la ECFA; y
2. relacionar el peso de las astas con la edad de los venados.

Materiales y métodos

En este estudio se utilizaron 146 astas colectadas en la ECFA. De las astas estudiadas, 51 fueron identificadas cuando se cayeron y se registró la edad de los individuos, registrando también el peso de las mismas. Las restantes 95 astas también fueron recolectadas después de la caída a lo largo de varios años, pero se almacenaron sin identificar la edad de los venados. De este último grupo, sólo en veinte astas estaba identificada la pertenencia a un mismo par (10 pares). La nomenclatura usada fue la de Bubenik, (1992).

Las astas almacenadas fueron clasificadas como astas de dos puntas ($n=6$), o astas de tres puntas. Las astas de tres puntas se clasificaron en las categorías I ($n=10$): astas con superficie lisa y sin ninguna particularidad; II ($n=57$): astas con exostosis (ya sea perlas, espinas o ambas); y III ($n=12$): astas con puntos accesorios, creciendo a partir de la rama central o desde alguna punta (Figura 24).

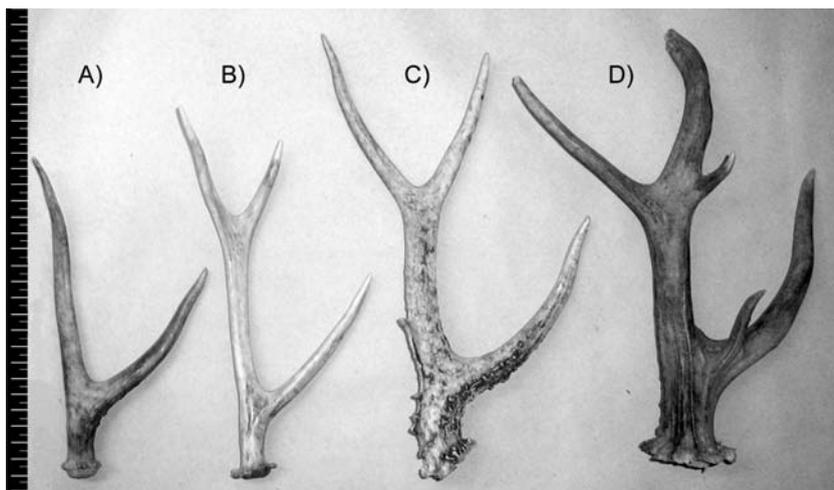


Figura 24. Clasificación de las astas como de dos puntas (A) o de tres puntas. Las astas de tres puntas fueron clasificados en las categorías I (B: astas con superficies lisas y sin ningún tipo de particularidad), II (B: astas con exostosis, con perlas, espinas o ambas), y III (C: astas con puntos accesorios, que crecieron desde el tronco o desde una punta).

Las astas fueron pesadas, y se midieron las siguientes variables: circunferencia de la corona (raíz), circunferencia en la base de la primera punta, largo desde la corona hasta la primera bifurcación, largo desde la corona hasta el extremo de la primera punta, el número de perlas (exostosis de 2-10 mm en la superficie de las astas), el número de espinas (exostosis que sean al menos de 10 mm de largo), y el número de puntos accesorios. Las puntas se consideraron como primera, segunda y tercera punta siguiendo un orden anterocaudal. Dado que algunas astas estaban rotas, no todas las variables pudieron ser registradas en cada una.

Los pesos de las astas derechas e izquierdas fueron comparadas con el test de t pareado. Las diferencias entre grupos se analizaron por ANOVA. Se realizaron comparaciones post-hoc con mínima diferencia significativa. Los resultados fueron considerados significativos con un $P < 0,05$. Diez (6,85%) de las astas estudiadas no pudieron ser clasificadas en ninguna de las categorías y no se incluyeron en el análisis.

Resultados

El peso de las astas izquierdas fue mayor que el peso de las astas derechas ($146,0 \pm 8,8$ vs. $142,5 \pm 8,6$ g, respectivamente, $P = 0,02$). Las astas de tres puntas fueron más pesadas, tuvieron mayor circunferencia de corona y de la primera punta que las astas de dos puntas, y una mayor longitud total (Tabla 8). El número de perlas también fue mayor en las astas de tres puntas que en las de dos (Tabla 8). El peso de las astas, circunferencia en la base de la primera y segunda punta, largo de la primera, segunda y tercera punta, y largo desde la corona a la primera, segunda y tercera bifurcaciones clasificadas por categoría de asta se presentan en la Tabla 9.

En la categoría II, las astas de tres puntas tuvieron $0,23 \pm 0,10$ ($n = 57$) espinas y $25,4 \pm 2,6$ perlas ($n = 57$) en la superficie. En la categoría III, las astas de tres puntas tuvieron $23,8 \pm 4,9$ perlas, $0,33 \pm 0,22$ espinas ($n = 12$), $0,25 \pm 0,13$ puntas accesorias en la rama principal ($n = 12$), y $1,1 \pm 0,1$ puntas accesorias que crecieron desde una punta ($n = 12$). La media de los pesos de los pares de astas aumentó con la edad de los machos hasta los 6 años de edad (Figura 25) ($n = 9, 10, 10, 10, 8$ y 13).

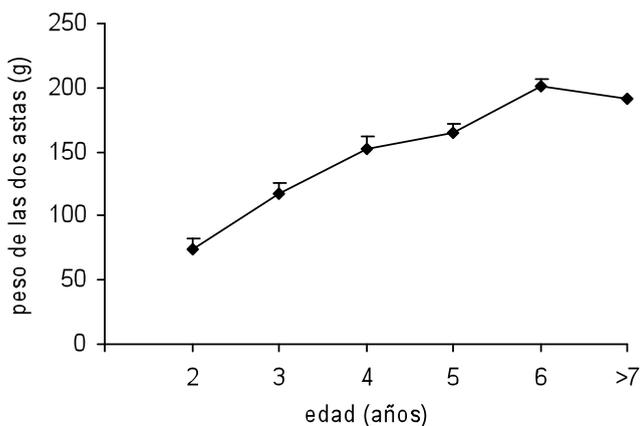


Figura 25. Peso de astas (peso medio de ambas astas) en relación con los años de edad en los machos de venado de campo ($n=9, 10, 10, 10, 8$ y 13). Diferentes letras, difieren: $P < 0,05$.

Tabla 8. Peso de astas, circunferencias, longitudes y números de espinas, perlas y puntos accesorios.

	Astas de dos puntas	n	Astas de tres puntas	n	P
Peso (g)	$19,4 \pm 4,3$	13	$139,5 \pm 4,8$	116	$< 0,001$
Circunferencia (cm)	corona	$4,6 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,2$	77	$0,003$
	primera	$3,8 \pm 0,3$	$5,5 \pm 0,1$	78	$0,001$
	segunda	$3 \pm 0,2$	$4,5 \pm 0,1$	77	ns
Longitud (cm)	primera	$7,6 \pm 1,3$	$13,3 \pm 0,4$	76	$< 0,001$
	segunda	$12,7 \pm 1,9$	$10,6 \pm 0,4$	73	ns
	corona a primera	$4,9 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1$	76	ns
	total	$18,1 \pm 0,9$	$24,4 \pm 0,5$	72	$< 0,001$
Espinass	$0,00 \pm 0,00$	6	$0,22 \pm 0,08$	79	ns
Perlas	$6,5 \pm 2,6$	6	$22,3 \pm 2,1$	78	$0,04$
Puntas accesorias en rama principal	$0,00 \pm 0,00$	6	$0,04 \pm 0,02$	79	ns
En otras puntass	$0,33 \pm 0,33$	6	$0,17 \pm 0,05$	79	ns

Discusión

Esta es la primera descripción detallada de la morfología de astas en una población de venado de campo. Los datos obtenidos de las astas de adultos están dentro del rango reportado por Pautasso *et al.* (2002) desde dos astas encontradas en Santa Fe (Argentina). Inusualmente, la forma de las astas fue relativamente común en la muestra estudiada.

Tabla 9. Peso, circunferencias y longitudes de las categorías I, II y III de las astas con tres puntas

		I	n	II	n	III	n
Peso (g)		58,8 ± 19,9 ^a	6	114,4 ± 7,2 ^b	46	116,7 ± 12,3 ^c	10
Circunferencia (cm)	corona	5,4 ± 0,4 ^a	9	6,8 ± 0,2 ^b	56	8,5 ± 0,5 ^c	12
	primera	4,6 ± 0,3 ^a	10	5,5 ± 0,2 ^b	56	6,5 ± 0,3 ^c	12
	segunda	4,0 ± 0,3 ^a	10	4,5 ± 0,1 ^b	56	5,1 ± 0,2 ^b	11
Longitud (cm)	tercera	3,9 ± 0,3 ^a	8	4,2 ± 0,1 ^b	53	4,8 ± 0,2 ^b	12
	primera	10,6 ± 0,9 ^a	9	13,3 ± 0,4 ^b	56	15,4 ± 0,8 ^b	11
	segunda	8,1 ± 1,1 ^a	10	10,6 ± 0,5 ^b	52	13,0 ± 0,5 ^c	11
	tercera	7,5 ± 0,9 ^a	7	10,1 ± 0,6 ^{ab}	47	10,6 ± 0,8 ^b	12
	a la primera	4,7 ± 0,9 ^a	9	4,9 ± 0,2 ^a	55	5,1 ± 0,2 ^a	12
	a la segunda	14,0 ± 1,1 ^a	8	14,2 ± 0,3 ^a	56	14,7 ± 0,6 ^a	12
	total	20,9 ± 1,1 ^a	9	24,4 ± 0,6 ^b	51	26,9 ± 0,6 ^c	12

Confirmamos la existencia de astas con dos y tres puntas, pero también, observamos que sólo un 5,5% de las astas tenían puntos accesorios. En el Parque Emas (Brasil), los machos tampoco tenían más de 6 puntas (Redford, 1987). En una población silvestre de Uruguay ubicada en Salto, Jackson *et al.* (1980) reportaron que había individuos con astas de tres puntas, pero las observaciones de los puntos accesorios no fueron comunes.

Nosotros observamos que en 7 de 67 astas había espinas (dos de ellas tenían cuatro cada una) y 9 de 67 astas tenían puntos accesorios, la mayoría de ellos habían crecido desde las puntas. En general, esto está de acuerdo con lo reportado por Jackson *et al.* (1980), quienes encontraron que el 22,4% de las astas que habían estudiado contenían puntos accesorios.

Frädrieh (1981) y Redford (1987) observaron una amplia variación de tamaño entre astas de tres puntas desde diferentes individuos. Por lo tanto, Redford (1987) sugirió que el tamaño las astas aumentan con los años de vida de los venados. Esto coincide con el aumento de peso que observamos hasta los 6 años de edad. Frädrieh (1981) también reportó que aparentemente las astas se engruesan con el correr de los años del animal. Redford (1987) también reportó que algunos machos adultos tienen astas considerablemente más pesadas que otros, aunque no fueron proporcionados datos directos del peso de las astas o la edad de los venados. Coincidentemente, el peso

corporal aumenta hasta los 4 años de vida de los venados, y la producción de testosterona hasta que continúa aumentando el peso de las astas (ver sección 5.2). Esto está de acuerdo con Geist (1998) y Smith (1998) que observaron una relación positiva entre el asta y el peso corporal en otros ungulados.

En síntesis, se realizó la primera descripción morfológica de las astas de venado de campo. El peso de las mismas aumenta hasta los 6 años de edad.

9.2. Estímulos sociales: efecto de la presencia de hembras sobre las astas de los machos

Introducción

Los procesos reproductivos son consecuencia de las señales ambientales externas y de los mecanismos endógenos de regulación neuroendócrina. Las señales socio-sexuales interactúan con el sistema neuroendócrino y con otras señales externas estimulando o inhibiendo la reproducción. Por lo tanto, la presencia o ausencia de otros individuos o el manejo social tiene una fuerte influencia sobre el estado reproductivo de los animales. En los rumiantes domésticos (ovinos, caprinos y bovinos), hay varios reportes sobre la influencia estimulante de los machos sobre la reproducción de hembras (ver revisiones Ungerfeld, 2007a, 2007b). También se ha reportado que, cuando se juntaron a los carneros con ovejas, hubo un aumento en sus frecuencias de pulsos de LH y de la concentración de testosterona (González *et al.*, 1988). Ungerfeld y Silva (2004) observaron que este aumento se mantuvo durante varios días. Además, Illius *et al.* (1976) reportaron un efecto positivo a largo plazo de la presencia de ovejas sobre los carneros. Estos autores reportaron que los carneros mantenidos cerca de ovejas tuvieron testículos más grandes, mayor concentración sérica de testosterona, y desarrollaron más comportamientos sexuales y agresivos.

En ciervos, la información relativa a estímulos socio-sexuales es escasa. En el ciervo rojo ha sido reportado que la exposición de hembras a machos determina un adelanto de la pubertad (Fisher *et al.*, 1995), y una concepción más temprana durante la estación de cría (Moore y Cowie, 1986; Mc Comb, 1987). También, aunque escasa, existe evidencia sobre los efectos estimuladores de la presencia de machos en la actividad reproductiva de la hembra. Se han publicado trabajos en el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*; Verme *et al.*, 1987), en el ciervo dama (*Dama dama*; Komers *et al.*, 1999), ciervo de los campos (*Cervus eldii*; Hosack *et al.*, 1997, 1999), ciervo almizclero (*Moschus chrysogaster*; Verme *et al.*, 1987), el caribú o reno (*Rangifer tarandus*; Adams *et al.*, 2001, Shipka *et al.*, 2002), y el alce (*Alce alce*; Whittle *et al.*, 2000). Por otro lado, las hembras de ciervo rojo compiten por el acceso a los machos (Clutton-Brock *et al.*, 1982) y las más dominantes quedan preñadas antes y paren con más frecuencia que las hembras subordinadas (Clutton-Brock *et al.*, 1986). Esta competencia entre hembras, también podría ser un estímulo importante para la actividad reproductiva del macho.

Tal como fue explicado en la sección 6.2.2, los machos presentan ciclos anuales de astas que están estrechamente relacionados con la concentración de andrógenos. El tamaño y la mineralización ósea están relacionados con las concentraciones de testosterona observadas en la estación reproductiva. Por otro lado, la caída de astas es observada 2 a 4 semanas luego de la disminución de la concentración de testosterona. Por lo tanto, el ciclo de astas y las características de las astas, tales como el peso, se han considerado un indicador directo de los cambios en la secreción de testosterona a lo largo del año (ver revisiones: Bubenik, 1990, 1991), y puede ser utilizado como una medida indirecta de los cambios gonadales en las especies que no pueden ser fácilmente manipuladas, como es el caso del venado de campo. Observaciones preliminares (no publicadas) sugieren que astas de machos en contacto con hembras son más oscuras que aquellos desde machos aislados de hembras. En otras especies, hay evidencia de que las feromonas de hembras prolongan la secreción de testosterona, influyendo sobre la duración del ciclo de astas (Bubenik y Bubenik, 1986). Teniendo en cuenta esta información, nuestro primer objetivo fue determinar si el contacto con hembras estimula el desarrollo de las astas e incrementa la duración del período con astas limpias. El segundo objetivo fue determinar si astas de machos que estuvieron o no en contacto con hembras difieren en el color.

Materiales y métodos

Manejo de animales y recolección de astas

Se consideraron los datos de machos que permanecieron organizados en cinco grupos de cría, y de seis machos que permanecieron en un grupo sólo de machos. Los machos fueron asignados al azar a cada grupo y se mantuvieron en esos grupos aproximadamente un año antes del comienzo de la recolección de datos hasta la conclusión del proyecto. El estado de las astas fue registrado diariamente, y cuando se observó la ausencia de un asta en un animal, se la buscó, colectó e identificó.

Tamaño de astas y número de perlas

Las astas fueron pesadas, se determinó el volumen, y se midieron los siguientes parámetros: circunferencia de la base, circunferencia en la base de la primera punta, el largo desde la corona a la primera bifurcación, el largo desde la corona hasta el extremo de la primera punta, y el número de perlas. Al igual que en los otros trabajos, las puntas fueron consideradas como primera, segunda y tercera punta en un orden antero-caudal.

Color de astas

El color de las astas fue determinado con un colorímetro (Minolta CR10, Minolta Camera Co, Osaka 541, Japón), y los resultados se reportaron de acuerdo a las recomendaciones de la Commission Internationale de l'Éclairage (CIE, 1976): valores de luminosidad (L^*) (desde diez el más oscuro hasta cien el más blanco), enrojecimiento (a^*) [desde el verde (valor negativo) al rojo (valor positivo)], y amarillamiento (b^*) [a partir de azul (valor negativo) a amarillo (valor positivo)].

El color se determinó por triplicado en once puntos por asta. Estos puntos incluyeron la parte interior de la corona, y la cara interna y externa de los siguientes puntos: punto medio desde la corona a la primer bifurcación, segunda bifurcación, y en el punto medio de la longitud de cada punta.

Análisis estadísticos

Los datos de los machos en contacto directo con las hembras ($n = 5$) se comparó con los machos que permanecieron en un único grupo de machos ($n = 6$). Las fechas de caída de las astas, las medidas del tamaño y color se compararon por ANOVA. El número de perlas en ambas astas fue comparada por el test de Kruskal-Wallis.

Resultados

Caída de astas

La caída de la primer asta tendió a ser más tardía en los machos en contacto con hembras que en aquellos del grupo sin hembras: $2,0 \pm 4,4$ de agosto vs. $21,8 \pm 3,9$ de julio ($P = 0,089$). La caída de la segunda asta se observó en todos los animales menos de un día después de la primera.

Tamaño de astas y número de perlas

El peso y volumen de las astas de los machos expuestos a hembras fue mayor que en los machos no expuestos [$148,7 \pm 7,4$ vs. $121,3 \text{ g} \pm 8,0 \text{ g}$ ($P = 0,018$), y $85,8 \pm 5,3 \text{ cm}^3$ vs. $68,8 \pm 6,3 \text{ cm}^3$ ($P = 0,037$), respectivamente]. La circunferencia en la base de la primera y segunda punta fue mayor en las astas de los machos que estuvieron en contacto con hembras que en los machos aislados de hembras (Tabla 10). La circunferencia de la tercera punta, el largo desde la corona a la primera bifurcación, y el largo de la primera punta tendió a ser mayor en los machos en contacto con hembras (Tabla 10). El número de perlas fue mayor en las astas de los machos en contacto con hembras: $299,8 \pm 48,1$ vs. $106,7 \pm 29,3$ ($P = 0,018$).

Color de astas

En general, las astas de los machos en contacto con hembras fueron más oscuras que las astas de los machos aislados (Tabla 11; Figura 26). El color en el interior de la corona fue similar en las astas recolectadas de machos que permanecieron con o sin contacto con hembras. Las astas de los machos que estuvieron en contacto con hembras fueron más oscuras (menor L^*) que aquellas de los machos que estuvieron en el grupo sólo de machos. No se observaron diferencias en los valores de a^* , salvo en la segunda bifurcación, la que tuvo un valor más alto en las astas de los machos que estuvieron en contacto con hembras. Con la excepción de la segunda bifurcación, en la que no se observaron diferencias, el valor b^* fue menor en las astas de machos en contacto con hembras. Aunque no hemos podido realizar mediciones, las diferencias de color ya eran evidentes en las astas duras desde la caída de la felpa.

En general, no hubo diferencias en los colores entre las astas derecha e izquierda en los machos que permanecieron aislados de hembras. Sin embargo, en los machos en

contacto con hembras, las astas derechas tuvieron mayor valor de a^* ($3,8 \pm 0,2$ vs. $3,5 \pm 0,1$, $P = 0,04$) y b^* ($24,7 \pm 0,3$ vs. $24,0 \pm 0,3$, $P = 0,04$). Sin embargo, los valores L^* de las astas izquierda y derecha fueron similares ($39,0 \pm 0,6$ vs. $38,1 \pm 0,6$). No hubieron diferencias en los valores L^* y b^* medidos en la cara interna y externa de las astas en los machos mantenidos en contacto con hembras. Sin embargo, el valor de a^* en la cara externa fue mayor que en la cara interna ($3,8 \pm 0,1$ vs. $3,4 \pm 0,1$, $P = 0,05$). En los machos aislados de hembras, el valor L^* de la cara externa ($48,6 \pm 0,6$) fue menor al de la interna ($50,2 \pm 0,6$, $P = 0,03$), y el valor a^* de la cara externa ($4,0 \pm 0,2$) fue mayor que la interna ($3,2 \pm 0,1$, $P < 0,001$).

Tabla 10. Circunferencia y largo (cm) de las astas de los machos de venado de campo que estuvieron en contacto permanente con hembras o aislados de ellas (media \pm EE).

	Parámetro	Contacto con hembras	Aislado de hembras	P
Circunferencia	Corona	$6,9 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,1$	ns
	Base de la primera punta	$6,2 \pm 0,2$	$5,7 \pm 0,2$	0,046
	Base de la segunda punta	$5,6 \pm 0,2$	$4,9 \pm 0,1$	0,002
	Base de la tercera punta	$4,9 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$	0,074
Largo	Desde la corona hasta la primera bifurcación	$4,9 \pm 0,2$	$5,4 \pm 0,2$	0,071
	Desde la corona hasta la segunda bifurcación	$15,2 \pm 0,5$	$14,6 \pm 0,7$	ns
	Primera punta	$16,6 \pm 0,4$	$14,6 \pm 1,1$	0,077
	Segunda punta	$15,0 \pm 0,4$	$14,8 \pm 0,9$	ns
	Tercera punta	$13,2 \pm 0,3$	$12,3 \pm 1,2$	ns

Tabla 11. Medidas de los parámetros de color L*, a* y b* en el interior de la corona y en otros 5 puntos según las recomendaciones de CIE (1976) en las astas de los machos de venado de campo que estuvieron en contacto permanente con hembras o aislados de ellas (media ± EE).

Parámetro de color	Zona medida	Contacto con hembras	Aislado de hembras	P
L*	Cara interna de la corona	62,3 ± 1,4	61,4 ± 1,7	ns
	Punto medio desde la corona a la primera bifurcación	36,0 ± 0,9	46,6 ± 1,9	< 0,0001
	Segunda bifurcación	43,4 ± 0,6	46,1 ± 1,0	0,006
	Primera punta	37,0 ± 1,0	51,5 ± 1,3	< 0,0001
	Segunda punta	37,9 ± 1,2	51,5 ± 0,9	< 0,0001
	Tercera punta	38,8 ± 0,5	51,3 ± 1,6	< 0,0001
a*	Cara interna de la corona	3,6 ± 0,5	4,3 ± 0,6	ns
	Punto medio desde la corona a la primera bifurcación	3,3 ± 0,4	4,0 ± 0,4	ns
	Segunda bifurcación	3,7 ± 0,4	2,5 ± 0,4	0,006
	Primera punta	3,3 ± 0,3	3,8 ± 0,4	ns
	Segunda punta	3,6 ± 0,3	3,5 ± 0,2	ns
	Tercera punta	4,0 ± 0,3	3,9 ± 0,6	ns
b*	Cara interna de la corona	32,5 ± 0,7	33,1 ± 1,1	ns
	Punto medio desde la corona a la primera bifurcación	23,4 ± 0,5	27,7 ± 0,6	< 0,0001
	Segunda bifurcación	26,3 ± 0,5	26,3 ± 0,8	ns
	Primera punta	23,6 ± 0,5	29,7 ± 0,5	< 0,0001
	Segunda punta	24,0 ± 0,7	29,2 ± 0,6	< 0,0001
	Tercera punta	24,6 ± 0,2	29,2 ± 0,7	< 0,0001



Figura 26. Astas derechas de ocho machos de venado de campo. Las cuatro de arriba corresponden a machos que estaban en contacto permanente con hembras, y las cuatro de abajo a machos que permanecieron separados de las mismas.

Discusión

Este estudio describe un efecto directo de la presencia de hembras sobre la actividad reproductiva, que repercute sobre las características de las astas. Las diferencias observadas en la mayoría de las características de las astas (peso y tamaño) y la tendencia de la fecha de caída de las mismas, indican que la actividad gonadal de los machos fue influenciada positivamente por el contacto permanente con hembras.

Nuestros datos concuerdan con información previa, las características de las astas fueron similares a las descritas en la sección 9.1. La caída de astas de los machos aislados de hembras en nuestro estudio, fue aproximadamente once días antes. Dado que las perlas crecen durante el período de alta concentración de testosterona (Bubenik, 1966), el mayor número observado en las astas de los machos en contacto con hembras, también pueden ser una consecuencia directa de la estimulación de testosterona. Como el ciclo de astas está estrechamente relacionado con la concentración de andrógenos (Bubenik, 1990), la presencia de hembras puede haber inducido una mayor concentración de testosterona, al menos, durante la estación reproductiva.

Teniendo en cuenta la poca distancia entre los encierros, es interesante sugerir que el contacto directo es más importante que otras señales estimulantes (por ejemplo, visual, vocal, o señales químicas). Al menos, ha sido reportado que las señales químicas

que influyen el ciclo de astas (Bubenik y Bubenik, 1986) no son suficientes para superar la falta de contacto directo, incluso con la pequeña distancia entre los potreros con machos de aquellos con hembras. Esto está en acuerdo con González *et al.* (1991), quienes encontraron que las señales químicas por sí solas no causan una respuesta endócrina en los carneros, como cuando las ovejas y carneros tienen contacto directo. Queda por determinar si el estímulo es solamente provocado por las hembras presentes en el mismo potrero, o si la presencia de otras hembras en los potreros adyacentes con contactos cercanos y posible competencia con los machos que permanecen con las hembras también puede estimular los machos.

Las astas de los machos en contacto con hembras fueron más oscuras y visualmente parecía evidente desde el momento en que cayó la felpa. Aunque de acuerdo a nuestro conocimiento no hay información previa en relación con el color de la superficie de las astas, este también fue influenciado por la presencia de hembras. Dado que el interior de la base de la corona no estaba coloreada, la influencia de las concentraciones de testosterona (Bubenik, 1990) podría ser sólo en la superficie. Aunque ha sido reportado que las astas se desarrollaron originalmente como «órganos producidos para atraer a las hembras» (Bubenik, 2002), la significancia del color como una señal visual es desconocida.

Hubo algunas diferencias de colores entre la cara interior y exterior de las astas, y astas izquierda y derecha en machos en contacto con hembras. La cara interna de las astas de los machos en contacto con hembras fue menos oscura, lo que puede ser consecuencia de una mayor superficie de desgaste producido por la actividad de marcado. La diferencia de color entre las astas izquierda y derecha podría sugerir un uso diferencial de marcado de ambas astas. La posibilidad de lateralidad sobre la actividad de astas está de acuerdo con una observación previa, en donde se reportaron pequeñas diferencias en el peso de astas (ver sección 9.1). Sin embargo, es interesante considerar que no hay reportes previos en diferencias de color lateral en astas de ciervos.

En síntesis, concluimos que los machos de venado de campo en contacto con hembras fueron estimulados, aumentando el peso de las astas, el tamaño y la oscuridad, y posiblemente, tuvieron un largo período de astas duras.

10. Obtención de semen

Introducción

El número de individuos en las especies de cérvidos sudamericanos *Ozotoceros*, *Mazama* y *Blastocerus* ha venido disminuyendo desde hace largo tiempo. Las técnicas de biotecnología reproductiva, tales como la inseminación artificial (IA), la fertilización in vitro (FIV) y la transferencia de embriones han sido utilizadas eficazmente en conservación animal (Holt y Pickard, 1999; Andrabi y Maxwell, 2007) y específicamente en otras especies de cérvidos silvestres (Garde *et al.*, 2006). El semen del venado de campo ha sido recolectado por electroeyaculación, vagina artificial y recolección vaginal.

La electroeyaculación es indudablemente el método de elección en animales no mansos, y es la técnica de recolección seminal más frecuentemente utilizada en cérvidos (Barbanti-Duarte y Garcia-Pereira, 1997). Jaczewski y Jasirowski (1974) utilizaron electroeyaculación para la recolección de semen en *Cervus elaphus* (utilizando voltajes de 4,5-31,5 V, y amperajes de 0,2-0,7 A). Barbanti-Duarte *et al.* (1993) recolectaron semen de venado de campo silvestre (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) exitosamente utilizando el equipo habitual en toros, con un electrodo modificado adaptado a la anatomía del venado de campo. Esta técnica fue utilizada en *Ozotoceros*, *Mazama* y *Blastocerus*. Los animales siempre fueron sedados previamente (2 mg/kg de xilazina y 1,6 mg/kg de ketamina), tanto por vía intramuscular como intravenosa. Los machos fueron estimulados con 250-750 mA, descansando cada tres segundos hasta llegar a diez estímulos. Luego de un período de descanso de uno a dos minutos el procedimiento era repetido si aún era necesario, pero nunca se hacía más de tres series de diez estímulos por sesión de recolección (Barbanti-Duarte y Garcia-Pereira, 1997). El volumen seminal obtenido fue muy escaso (0,1-0,7 mL) pero la concentración fue alta (media: 1.500×10^6 espermatozoides/mL; máximo 3.000×10^6 espermatozoides/mL). Nunca se hizo más de una recolección seminal/semana.

También se ha obtenido semen de venado de campo con vaginas artificiales para carneros (Barbanti-Duarte y Garcia-Pereira, 1989). La frecuencia de recolecciones con este método puede ser más alta. Sin embargo, la técnica sólo puede utilizarse en animales mansos y entrenados. Se puede utilizar animales embalsamados, con orina de hembra derramada sobre el lomo, como maniquí facilitador de la recolección. En animales muy mansos y con un fuerte «imprinting» (animales que han sido criados por humanos desde el nacimiento) puede hacerse la recolección sobre la rodilla del operador (Barbanti-Duarte y Garcia-Pereira, 1989). En animales más tímidos, se utiliza un maniquí provisto de una vagina artificial. El maniquí se deja dentro del encierro en que se encuentra el macho donante y el operador simplemente espera que el animal copule con el maniquí, tal como ha sido descrito para el ciervo rojo (*Cervus elaphus*) por Krziwinski y Bobek (1984). Soto *et al.* (1995) recolectaron semen de un macho *Ozotoceros bezoarticus celer*

nacido en cautiverio utilizando vaginas artificiales del modelo danés, a 42°C. Los volúmenes eyaculados con este método fueron muy pequeños (0,1-0,25 mL).

En Santa Fe, Argentina, se obtuvo semen por electroeyaculación de animales anestesiados, aplicando series de pulsos de voltaje creciente, a partir de 2 V, hasta lograr la eyaculación. Se obtuvo semen en siete oportunidades y a partir de cinco machos diferentes (tres veces a mitad del invierno, dos veces al principio del otoño, una al principio del verano y otra a mitad de la primavera). Se obtuvo una o dos fracciones de eyaculado en cada animal. Los volúmenes variaron entre 0,1 mL y 0,6 mL. El porcentaje de espermatozoides móviles varió entre 20% y 70%, y la concentración entre 15 y 1235 millones espermatozoides/mL. La cantidad total de espermatozoides eyaculados varió entre 34 y 130 millones (A. Sestelo, comunicación personal).

En caso de recolección vaginal, previamente a la cópula se introduce una mucosa artificial dentro de la vagina de una hembra en estro, para minimizar la pérdida de semen (Jaczewski y Jasiorowski, 1974). Luego de que el macho copula la hembra, ésta es sedada y se recoge el semen con una pipeta Pasteur.

Considerando la información previa, nos planteamos como objetivo poner a punto la técnica de recolección de semen en la población de la ECFA y generar un banco de semen.

Materiales y métodos

Se trabajó con doce machos, seis juveniles y seis adultos, alojados en un corral distinto por categoría. Hasta el momento se realizaron 54 extracciones. Debido a los antecedentes sobre el período en el que puede manifestarse el estrés de la captura en animales silvestres, se resolvió realizar no más de una extracción por animal cada 3 meses. Se realizaron extracciones en 2008 [enero (n = 2), marzo (n = 12), junio (n = 11) y setiembre (n = 10)] y 2009 [enero (n = 10) y marzo (n = 9)].

Los ejemplares fueron capturados utilizando una cerbatana de dardos, cargados con ketamina, xilacina y atropina (dosis: 1,60; 2,0; y 0,013 mg/kg respectivamente), revirtiendo posteriormente la anestesia con yohimbina (0,12-0,17 mg/kg iv). Una vez anestesiados, los animales fueron transportados a la sala veterinaria de la ECFA en camillas acolchadas. Durante todo el trabajo se controlaron los signos vitales de cada animal, y en algunas ocasiones fue necesario reforzar la anestesia.

Para la obtención de material seminal se utilizó un electro eyaculador con una sonda rectal de 19 mm de diámetro con tres electrodos longitudinales. Se retiró el prepucio exponiendo el glande, siendo mantenido fuera en forma manual sujetándolo con gasas estériles hasta que el estímulo eléctrico generó la erección. A cada ejemplar se le realizaron series de 10 estímulos (1s hasta alcanzar el voltaje deseado, 4s en el voltaje y un corte rápido a 0V), desde 1V a 8V, obteniendo semen en todas las oportunidades.

Debido al pequeño volumen de semen que se colecta en la especie, el semen fue recogido en copas manufacturadas a partir de tubos plásticos de 10 ó 20 mL con fondo cónico, que fueron cortados dejando solamente 3-4 mL, y a los que se les limó el borde para eliminar el filo.

Los parámetros seminales evaluados fueron: volumen, color, pH, total de espermatozoides en eyaculado, calidad (escala de 0-5), porcentaje de espermatozoides móviles, porcentaje de espermatozoides vivos (tinción de eosina-nigrosina), morfología espermática e integridad del acrosoma (muestras fijadas en glutaraldehído 2% en buffer cacodilato 0,165 M).

Resultados

En todos los animales se obtuvo semen. En general, la erección no fue apreciable antes de llegar a las series de 3-5 V. Si bien en algunas ocasiones la eyaculación comenzó en los últimos pulsos de la serie de 1 V o en los primeros de la serie de 2 V, en la mayor parte de los casos comenzó en las series de 4, 5 ó 6 V. En algunas ocasiones fue necesario recomenzar la serie desde 4 V.

El volumen de semen obtenido varió entre 15 y 1295 μL ($356,7 \pm 284,7$), los colores variaron entre transparente-blancuzco-amarillento, y el pH fue de 6,7 a 8,5 ($7,8 \pm 0,5$). El resto de los parámetros se presentan en la Tabla 12, incluyendo los rangos encontrados en la totalidad de los muestreos.

Tabla 12. Características seminales en venado de campo, obtenido por electro eyaculación bajo anestesia. Los parámetros seminales se presentan como media, desvío estándar (DE), mínimos y máximos.

	TEE ($\times 10^6$)	Calidad	% M	% Vivos	% IA	% MN
Media	186,4	3,1	59,3	67,6	60,6	69,7
DE	266,3	1,1	20,2	16,8	18,2	16,8
Min - Máx	0,05 - 1324,8	0,5 - 5	5 - 90	25 - 99	11 - 99	25 - 99

* TEE ($\times 10^6$): total de espermatozoides en eyaculado; Calidad 0 a 5; % M: porcentaje de espermatozoides móviles; % IA: porcentaje de espermatozoides con acrosoma íntegro; % MN: espermatozoides morfológicamente normales.

Discusión

El presente trabajo informa sobre la técnica que hemos utilizado en venados de campo en semicautiverio, no mansos, para la extracción de semen. Aunque ya existieron algunas experiencias anteriores sobre extracción de semen de esta especie en nuestro país, esta es la primera vez, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, que en nuestro país se comunican resultados de una serie de extracciones repetidas y estandarizadas, con evaluación seminal y análisis estadístico de los resultados. Los mismos indican que la extracción de semen en venado de campo se ha realizado por varias técnicas, y en el caso de la extracción por electroeyaculación, tanto con el animal sedado como con el animal anestesiado.

Es interesante que la utilización de anestesia, técnica utilizada por el equipo argentino de A. Sestelo (comunicación personal), permitió la obtención de semen en forma segura para los animales, y con volúmenes máximos muy superiores a los reportados

por otros investigadores. De la misma manera, la cantidad total de espermatozoides fue mayor que la obtenida por otros equipos. Tal vez esto se pueda explicar por las condiciones en que se encontraban nuestros animales, con alimento en abundancia, pero al mismo tiempo en encierros relativamente grandes y con abundante vegetación natural, lo que determinaría menores niveles de estrés de los animales.

La técnica descrita permitió coleccionar semen y comenzar a generar un banco de semen en una especie en peligro de extinción, pudiendo ser utilizado como una herramienta en estudios de biología reproductiva en machos de venado de campo así como reservorio de diversidad genética para el futuro. Actualmente se continúan los trabajos planteándose determinar los mejores diluyentes y técnicas de conservación del semen para la especie.

11. Síntesis y perspectivas

Se presentaron una serie de trabajos que han tenido un impacto importante en el conocimiento de la biología reproductiva del venado de campo. Tal como se fundamentó, es esencial desarrollar dicho conocimiento en una especie de la que poco se sabía, pero en la que el conocimiento es necesario para desarrollar políticas de conservación adecuadas. Más aún, considerando que las subespecies que habitan en nuestro país solamente se encuentran en el mismo, no es posible desarrollar el conocimiento adecuado a las mismas en otros lugares.

Más allá de los trabajos puntuales, es importante destacar que para el trabajo de investigación en la especie se ha conformado un equipo importante en número de investigadores, pero sobre todo sostenido en un carácter interdisciplinario importante, donde se integran más de una veintena de investigadores de una decena de instituciones de 4 países. Dado que la información presentada es parcial no todos los investigadores participan del trabajo presentado, pero sin dudas que a corto plazo se concretarán importantes avances en otras áreas del conocimiento de la especie.

En ese sentido, además de los trabajos actualmente presentados, hay otras líneas de investigación en marcha que incluyen el estudio de las técnicas de presevación de semen y los diluyentes más adecuados en la especie, el estudio morfológico y ultraestructurales de los espermatozoides, los manejos anestésicos para la extracción de semen, el establecimiento y la evolución del vínculo madre-cría, la evolución alimenticia de las crías, la microanatomía de las astas, las características del parto, o la determinación de los principales parámetros hematológicos.

A su vez, creemos importante destacar que los trabajos desarrollados están repercutiendo no solamente en el desarrollo de nuevos conocimientos, sino en la formación de recursos humanos en un área temática en que no existían vías formales para hacerlo. Varios estudiantes están realizando o han finalizado sus tesis de Maestría o de Grado en la Facultad de Veterinaria. Por tanto, entendemos importante destacar que además del trabajo actualmente presentado hay un grupo de estudiantes y docentes desarrollando un trabajo en equipo en el más amplio sentido, con una visión integral de la temática que abren perspectivas de desarrollo futuro de la investigación en un campo que hasta el momento era escaso.

Bibliografía

- Adams, C. A.; Bowyer, R. T.; Rowell, J. E.; Hauer, W. E. y Jenks, J. A. (2001), «Scent marking by male caribou: an experimental test of rubbing behavior», *Rangifer*, 21: 21-27.
- Adams, L. G. y Dale, B. W. (1998), «Timing and synchrony of parturition in Alaskan caribou», *J Mammal*, 79: 287-294.
- Adams, R. P. (2007), *Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois, EEUU.
- Ajmat, M. T.; Chamut, S. y Black-Decima, P. (1999), «"Osmetricchia" in the grey brocket deer (*Mazama gouazoubira*)», *Biocell*, 23: 171-176.
- Alexy, K. J.; Gasset, J. W.; Osborn, D. A.; Miller, K. V. y Russell, S. M. (2003), «Bacterial fauna of the tarsal tufts of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)», *Am Midl Nat*, 149: 237-240.
- Altmann, M. (1952), «Social behavior of elk, *Cervus canadensis nelsoni* in the Jackson Hole area of Wyoming», *Behav*, 4: 116-143.
- (1960), «The role of juvenile elk and moose in the social dynamics of their species», *Zoologica*, 45: 53-39.
- Anderson, D. L.; del Aguila, J. A. y Bernadon, A. B. (1970), «Las formaciones vegetales en la Provincia de San Luis», *Rev Inv Agr* (Argentina), 7: 153-183.
- Andersson, G.; Andersson, K.; Brundin, A. y Rappe, C. (1975), «Volatile compounds from the tarsal scent gland of reindeer (*Rangifer tarandus*)», *J Chem Ecol*, 1: 275-281.
- Andersson, G.; Brundin, A. y Andersson, K. (1979), «Volatile compounds from the interdigital gland of reindeer (*Rangifer t. tarandus L.*)», *J Chem Ecol*, 5: 321-333.
- Andersson, G. (1979), «Volatile ketones from the preorbital gland of reindeer (*Rangifer t. tarandus L.*)», *J Chem Ecol*, 5: 629-634.
- Andrabi, S. M. y Maxwell, W. M. (2007), «A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species», *Anim Reprod Sci*, 99: 223-43.
- Apollonio, M. (1989), «Lekking in fallow deer: just a matter of density?», *Ethol Ecol Evol*, 1: 291-294.
- y Di Vittorio, I. (2004), «Feeding and reproductive behaviour in fallow bucks (*Dama dama*)», *Naturwissenschaften*, 91: 579-584.
- Asher, G. W. (2007), «Gestation length in red deer: genetically determined or environmentally controlled?», en Juengel, J. L.; Murria, J. F. y Smith, M. F. (eds.), *Reproduction in domestic ruminants VI*, Nottingham University Press, UK. pp. 255-260.
- Asher, G. W.; Haigh, J. C. y Wilson, P. R. (1997), «Reproductive behavior of red deer and wapiti», en Youngquist, R. S. y Threlfall, W. R. (eds.), *Current therapy in large animal theriogenology 2*, Elsevier, EEUU. pp. 937-942.
- Atkeson, T. D. y Marchinton, R. L. (1982), *Forehead glands in white tailed deer*, School of Forest Resource, University of Georgia, Athens.
- Baker, D. H. (2005), «Comparative nutrition and metabolism: Explication of open questions with emphasis on protein and amino acids», *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 102: 17897-17902.
- Bakke, J. M. y Figenschou, E. (1990) «Volatile compounds from the red deer (*Cervus elaphus*). Substances secreted via the urine», *Comp Biochem Physiol Part A: Physiology*, 97A: 427-431.
- Banks, E. M. (1964), «Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *Ovis aries*», *Behaviour*, 23: 249-279.
- Barbanti-Duarte, J. M.; Arantes, I. G.; Garcia, J. M. y Nascimento, A. A. (1993), «Captura e avaliação de uma população de *Ozotoceros bezoarticus leucogaster* no Brasil», en IUCN, *Population and Viability Assessment for the Pampas Deer*. SSC/IUCN.

- Barbanti-Duarte, J. M. y Garcia-Pereira, J. M. (1997), «Tecnologia da reprodução para propagação e conservação de espécies ameaçadas de extinção» en Barbanti-Duarte, J. M. (ed.), *Biologia e Conservação de Cervídeos Sul-americanos*, Jaboticabal, FUNEP, Brasil. pp. 228-238.
- Barrette, C. (1977), «Scent-marking in captive muntjacs, *Muntiacus reevesi*», *Anim Behav*, 25: 536-541.
- Bartoš. L.; Fricová, B.; Bartošová-Víchová, J.; Panamá, J.; Šustr, P. y Šmídová, E. (2007), «Estimation of the probability of fighting in fallow deer (*Dama dama*) during the rut», *Aggr Behav*, 33: 7-13.
- Bergström, G. (2007), «Chemical Ecology = Chemistry + Ecology», *Pure Appl Chem*, 79: 2305-2323.
- Bertouille, S. B. y de Crombrughe, S. A. (2002), «Fertility of red deer in relation to area, age, body mass, and mandible length», *Zeitschr. Jagdwiss*, 48: 87-98.
- Bianchini, J. J. y Pérez, J. C. L. (1972), «El comportamiento de *Ozotoceros bezoarticus celer* Cabrera en cautiverio», *Acta Zool Lilloana*, 29: 5-16.
- Blottner, S.; Hingst, O. y Meyer, H. H. D. (1996), «Seasonal spermatogenesis and testosterone production in roe deer (*Capreolus capreolus*)», *J Reprod Fert*, 108: 299-305.
- Bowyer, R. T. (1991), «Timing of parturition and lactation in southern mule deer», *J Mammal*, 72: 138-145.
- Van Ballenberghe, V. y Kie, J. G. (1998), «Timing and synchrony of parturition in Alaskan moose: long-term versus proximal effects of climate», *J Mammal*, 79: 1332-1344.
- Bowyer, R. T.; Van Ballenberghe, V. y Rock, K. R. (1994), «Scent marking by Alaskan moose. Characteristics and spatial distribution of rubbed trees», *Can J Zool*, 72: 2186-2192.
- Brinklow, B. R. y Loudon, A. S. (1993), «Gestation periods in the Pere David's deer (*Elaphurus davidianus*): evidence for embryonic diapause or delayed development», *Reprod Fertil Dev*, 5: 567-575.
- Brownlee, R. G.; Silverst, R. M.; Mullersc, D. y Singer, A. G. (1969), «Isolation, identification and function of chief component of male tarsal scent in black-tailed deer», *Nature*, 221: 284-288.
- Brundin, A. y Andersson, G. (1979), «Seasonal variation of three ketones in the interdigital gland secretion of reindeer (*Rangifer tarandus* L.)», *J Chem Ecol*, 5: 881-889.
- Brundin, A.; Andersson, G.; Andersson, K.; Mossing, T. y Allquist, L. (1978), «Short-chain aliphatic acids in the interdigital gland secretion of reindeer (*Rangifer tarandus* L.) and their discrimination by reindeer», *J Chem Ecol*, 4: 613-622.
- Bubenik, A. B. (1966), *Das geweih*, Paul Parey Verlag, Hamburgo, pp. 164.
- (1992), «Proposals for standardized nomenclature for bony appendices in Pecora»; en Brown, R. D. (ed.), *Antler development in Cervidae*, Caesar Kleberg WI, Kingsville, pp. 187-194.
- Bubenik, G. A. (1990), «The antler as a model in biomedical research, en Bubenik, G. A. y Bubenik, A. B. (eds.), *Horns, pronghorns, and antlers. Evolution, morphology, physiology and social significance*, Springer-Verlag, EEUU, pp. 474-487.
- (1991), «Regulatory mechanisms of the antler cycle and the selection of deer breeding stock by endocrine tests», en Renecker, L. A. y Hudson, R. J. (eds.), *Wildlife Production--Conservation and Sustainable Development*, AFES Misc. Publ. 91-6. Fairbanks, AK, Univ. of Alaska. pp. 521-529.
- (1999), «New aspects of the regulation of antler development: reevaluation of old dogmas», *Zeitsch Jagdwiss*, 45: 165-173.
- (2002), «All you need to know about growing antlers: why, where, when and how they grow», *Proc 3rd World Deer Farming Congr*, Austin, Tejas, pp. 163-176.
- Bubenik, G. A. y Bubenik, A. B. (1986), «Phylogeny and ontogeny of antlers and neuro-endocrine regulation of the antler cycle: A review», *Säugetierk Mitteilungen Mam Inf*, 33: 97-123.
- Bunnell, F. L. (1980), «Factors controlling lambing period of Dall's sheep», *Can J Zool*, 58: 1027-1031.

- Burger, B. V. (2005), «Mammalian semiochemicals», en Schulz, S. (ed.), *Chemistry of pheromones and other semiochemicals*, II Vol. 240, Springer. pp. 231-278.
- Buttner, K. (1991), «Investigations on the danger scenting behavior of roe deer in closed forest areas with special consideration of the doe-fawn relationship», *Zeitschr Jagdwiss*, 37: 107-115.
- Cabrera, A. (1943), «Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica», *Rev. Museo La Plata, Argentina*, 3 5-41.
- Cameron, R. D.; Smith, W. T.; Fancy, S. G.; Gerhart, K. L. y White, R. G. (1993), «Calving success of female caribou in relation to body weight», *Can J Zool*, 71: 480-486.
- Carranza, J. y Mateos-Quesada, P. (2001), «Habitat modification when scent marking: shrub clearance by roe deer bucks», *Oecologia*, 126: 231-238.
- Carrillo-García, A.; Alonso, M. de L.; Escobar, M. I.; Ramírez, R. y Mota, D. (2005), «Elaboración de un etograma empático del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*) en cautiverio», *Cuadernos de etología y fauna silvestre*, 2. UJED, México, pp. 132.
- Carvalho, C. T. (1973), «O veado campeiro (*Mammalia, Cervidae*)», *Boletim Técnico*, 7, Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Coordenadoria da Pesquisa de Recursos Naturais, Insituto Florestal, Brasil. pp. 9-22.
- Chapman, D. L. (1975), «Antlers: bones of contention», *Mammal Rev*, 5: 121-172.
- CIE (1976), «CIE, Commission Internationale de l'Éclairage, Colorimetry», *Publication N° 15*, Bureau central CIE, Viena, Austria.
- CITES (2008), *Appendices I, II and III*, Valid from 12 February 2008, disponible en <<http://www.cites.org/eng/app/appendices.shtml>>
- Clutton-Brock, T.; Guinness, F. E. y Albon, S. D. (1982), *Red deer: behavior and ecology of two sexes*, Chicago, Ed. University of Chicago. pp. 378.
- Clutton-Brock, T. H.; Albon, S. D. y Guinness, F. E. (1986), «Great expectations: dominance, breeding success and offspring ratios in red deer», *Anim Behav*, 34: 460-471.
- Cosse, M. (2001), «Dieta y solapamiento de la población de venado de campo "Los Ajos", (*Ozotoceros bezoarticus* L 1958) (*Artiodactyla: Cervidae*)», Tesis de Maestría, Montevideo, Pedeciba.
- Costa, F. y Gudynas, E. (1995), *Sexo y cortejo: una mirada al comportamiento sexual en animales y humanos*, Colección Prometeo 1, Montevideo, Fin de Siglo, pp. 116.
- Darling, F. F. (1937), *A herd of red deer*, Oxford Univ. Press, Londres, pp. 215.
- de Vos, A. (1967) «Rubbing of Conifers by White-Tailed Deer in Successive Years» by A. de Vos *Journal of Mammalogy*, Vol. 48, n.º 1, pp. 146-147
- Brox, P. y Geist, V. (1997), «A review of social Behavior of the North American Cervids during the reproductive period», *Am Midl Nat*, 77(Suppl 2): 390-417.
- Dellafiore, C. M.; Demaría, M.; Maceira, N. y Bucher, E. (2003), «Distribution and abundance of the pampas deer in San Luis province, Argentina», *J Neotrop Mammal*, 10: 41-47.
- Demaría, M. R.; McShea, W. J.; Koy, K. y Maceira, N. O. (2003), «Pampas deer conservation with respect to habitat loss and protected area considerations in San Luis, Argentina», *Biol Conserv*, 115: 121-130.
- Denniston, R. H. II (1956), «Ecology, behavior and population dynamic of the Wyoming of Rocky Mountain moose, *Alces alces shirasi*», *Zoológica*, 41: 105-118.
- Dixon, R. A. (1999), «Plant natural products: the molecular genetic basis of biosynthetic diversity», *Curr Opin Biotechnol*, 10: 192-197.
- Fisher, M. W.; Meikle, L. M. y Johnstone, P. D. (1995), «The influence of the stag on pubertal development in the red deer hind», *Anim Sci*, 60: 503-508.
- Fourier, F.; Thomas, D. W. y Garland, T. (1999), «A test of two hypotheses explaining the seasonality of reproduction in temperate mammals», *Funct Ecol*, 13: 523-529.

- Frädrieh, H. (1981), «Beobachtungen am pampashirsch, *Blastoceros bezoarticus* (L., 1758)», *Zool Gart*, 51: 7-32.
- (1987), *Internationales Zuchtbuch für den Pampashirsch*, Berlín, pp. 34.
- Gaillard, J. M.; Delorme, D.; Jullien, J. M. y Tatin, D. (1993), «Timing and synchrony of births in roe deer», *J Mammal*, 74: 738-744.
- Gaillard, J. M.; Sempéré, A. J.; Boutin, J. M.; Van Laere, G. y Boisaubert, B. (1992), «Effects of age and body weight on the proportion of females breeding in a population of roe deer (*Capreolus capreolus*)», *Can J Zool*, 70: 1541-1545.
- Galindo, F. y Orihuela, A. (2004), *Etología aplicada*, México, UNAM, pp. 405.
- Garcia-Pereira, R. J.; Barbanti-Duarte, J. M. y Negrão, J. A. (2005), «Seasonal changes in fecal testosterone concentrations and their relationship to the reproductive behavior, antler cycle and grouping patterns in free-ranging male pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*)», *Theriogenology*, 63: 2113-2125.
- Garde, J. J.; Martínez-Pastor, F.; Gomendio, M.; Malo, A. F.; Soler, A. J.; Fernández-Santos, M. R.; Esteso, M. C.; García, A. J.; Anel, L. y Roldán, E. R. S. (2006), «The application of reproductive technologies to natural populations of red deer», *Reprod Dom Anim*, 41: 93-102.
- Garel, M.; Cugnasse, J. M.; Gaillard, J. M.; Loison, A.; Gibert, P.; Douvre, P. y Dubray D. (2005), «Reproductive output of female mouflon (*Ovis gmelini musimon* x *Ovis sp.*): a comparative analysis», *J Zool*, 266: 65-71.
- Gassett, J. W.; Dasher, K. A.; Miller, K. V.; Osborn, D. A. y Russell, S. M. (2000), «White-tailed deer tarsal glands: sex and age-related variation in microbial flora», *Mammalia*, 64: 371-377.
- Gassett, J. W.; Wiesler, D. P.; Baker, A. G.; Osborn, D. A.; Miller, K. V. y Marchinton, R. L. (1997), «Novotny, M., Volatile compounds from the forehead region of male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)», *J Chem Ecol*, 23: 569-578.
- Gassett, J. W.; Wiesler, D. P.; Baker, A. G.; Osborn, D. A.; Miller, K. V.; Marchinton, R. L. y Novotny, M. (1996), «Volatile compounds from interdigital gland of male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)», *J Chem Ecol*, 22: 1689-1696.
- (1997), «Volatile compounds from the forehead region of male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)», *Journal of Chemical Ecology* 23, 569-578.
- Geist, V. (1998), Three-pronged Old World deer. En: Geist V (Ed) *Deer of the world: their evolution, behaviour, and ecology*, Mechanicsburg, PA: Stackpole Books, pp. 55-80.
- González, R.; Levy, F.; Orgeur, P.; Poindron, P. y Signoret, J. P. (1991), «Female effect in sheep. II Role of volatile substances from the sexually receptive female; implication of the sense of smell», *Reprod Nutr Dev*, 31: 103-109.
- González, R.; Orgeur, P. y Signoret, J. P. (1988), «Luteinizing hormone, testosterone and cortisol responses in rams upon presentation of estrous females in the nonbreeding season», *Theriogenology*, 30: 1075-1086.
- González, S. (1993), «Situación poblacional del venado de campo en el Uruguay», en *Population and habitat viability assessment for the pampas deer Ozotoceros bezoarticus*, *Briefing book*, Rocha, octubre.
- (1997), «Análisis de la variabilidad morfológica y genética del venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) y sus consecuencias para la conservación», Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas, Montevideo, Pedeciba.
- González, S.; Alvarez-Valín, F. y Maldonado, J. E. (2002), «Morphometric differentiation of endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*), with descriptions of new subspecies from Uruguay», *J Mamm*, 83: 1127-1140.
- González, S.; Maldonado, G.; Leonard, J. A.; Vilà, C.; Barbanti-Duarte, J. M.; Merino, M.; Brum-Zorrilla, N. y Wayne, R. K. (1998), «Conservation genetics of the endangered pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*)», *Mol Ecol*, 7: 47-56.

- González-Sierra, U. T. (1985), «Erfahrungen mit der zucht von pampashirschen (*Ozotoceros bezoarticus*)», *Bongo* (Berlin), 9: 33-44.
- Gosling, L. M. (1985), «From The even-toed ungulates: order Artiodactyla: Sources, behavioural context, and functional of chemical signals», en Brown, R. E. y Macdonald, D. W. (eds.), *Social Odors in mammals*, Vol. 2, 1ª ed., Londres, Larendon Press-Oxford University Press, pp. 550-618.
- Góss-Braga, F. (1999), «Redescoberta do veado-campeiro, *Ozotoceros bezoarticus*, no estado do Paraná-Brasil», en II Taller de Cérvidos del Uruguay, Montevideo, mayo.
- Green, M. J. B. (1987), «Scent marking in the himalayan musk deer (*Moschus chrysogaster*)», *J Zool Ser B*, London, 1: 721-737.
- Haigh, J. C. (2007), «Reproductive anatomy and physiology of male wapiti and red deer», en Youngquist, R. y Threlfall, W. R. (eds.), *Current therapy in large animal theriogenology*, 2. W. Saunders, pp. 932-936.
- Haigh, J. C.; Cates, W. F.; Glover, G. J. y Rawlingst, N. C. (1984), «Relationships between seasonal changes in serum testosterone concentrations, scrotal circumference and sperm morphology of male wapiti (*Cervus elaphus*)», *J Reprod Fert*, 70: 413-418.
- Hanlon, A. J.; Rhind, S. M.; Reid, H. W.; Burrells, C.; Lawrence, A. B.; Milne, J. A. y McMillen, S. R. (1994), «Relationship between immune response, liveweight gain, behaviour and adrenal function in red deer (*Cervus elaphus*) calves derived from wild and farmed stock, maintained at two housing densities», *Appl Anim Behav Sci*, 41: 243-255.
- Harrison, R. J. y Hamilton, W. J. (1952), «The reproductive tract and the placenta and membranes of Pere David's deer (*Elaphurus davidianus* Milne Edwards)», *J Anat*, 86: 203-225.
- Hochereau de Reviers, M. T. y Lincoln, G. A. (1978), «Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer, *Cervus elaphus*», *J Reprod Fert*, 54: 209-213.
- Holt, W. V. y Pickard, A. R. (1999), «Role of reproductive technologies and genetic resource banks in animal conservation», *Rev Reprod*, 4: 143-150.
- Hosack, D. A.; Miller, K. V.; Marchinton, R. L. y Monfort, S. L. (1997), «Ovarian activity in captive Eld's deer (*Cervus eldi thamin*)», *J Mammal*, 78: 669-674.
- Hosack, D. A.; Miller, K. V.; Ware, L. H.; Mashburn, K. L.; Morrow, C. J.; Williamson, L. R.; Marchinton, R. L. y Monfort, S. L. (1999), «Stag exposure advances the LH surge and behavioral estrus in Eld's deer hinds after CIDR device synchronization of estrus», *Theriogenology*, 51: 1333-1342.
- Hurnik, JF. (1987), «Sexual behavior of female domestic mammals», *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*, Jul; 3(2): 423-461.
- Illius, A. W.; Haynes, N. B. y Lamming, G. E. (1976), «Effects of ewe proximity on peripheral plasma testosterone levels and behaviour in the ram», *J Reprod Fert*, 48:25-32.
- International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature (ICVGAN), *Nómina Anatómica Veterinaria (NAV)*, 5th ed., disponible en <http://www.wava-amav.org/Downloads/nav_2005.pdf>
- Jackson, J. E. (1985), «Behavioural observations on the argentinian pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* celer, Cabrera 1943)», *Z Säug*, 50:107-116.
- (1986), «Antler cycle in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) from San Luis, Argentina», *J Mammal*, 67: 175-176.
- (1987), «*Ozotoceros bezoarticus*», *Mamm. Species*, 295: 1-5.
- Jackson, J. y Giullieti, J. (1988), «The food of pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* celer in relation to its conservation in relict natural grassland in Argentina», *Biol Cons*, 45: 1-10.
- Jackson, J. E.; Landa, P. y Langguth, A. (1980), «Pampas deer in Uruguay», *Oryx*, 15: 267-272.

- Jackson, J. E. y Langguth, A. (1987), «Ecology and status of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Argentinean pampas and Uruguay», en Wemmer, C. (ed.), *Biology and management of the Cervidae*, Washington, Smithsonian Institution Press, pp. 402-409.
- Jaczewski, Z. y Jasiorowski, T. (1974), «Observations on the electroejaculation in red deer», *Acta Theriol*, 29: 291-295.
- Jemiolo, B.; Miller, K.; Wiesler, D.; Jelinek, I.; Novotny, M. y Marchinton, R. (1995), «Putative chemical signals from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). Urinary and vaginal mucus volatiles excreted by females during breeding season», *J Chem Ecol*, 21: 869-879.
- Jennings, D. J.; Gammell, M. P.; Carling, C. M. y Hayden, T. J. (2003), «Is the parallel walk between competing male fallow deer, *Dama dama*, a lateral display of individual quality?», *Anim Behav*, 65: 1005-1012.
- Junguis, H. (1975-1976), «Status and distribution of threatened deer species in South America. Report to SSC/IUCN deer group», en *World Wildlife Fund Yearbook*, Suiza, Gland, 76: 203-217.
- Kile, T. L. y Marchinton, R. L. (1977), «White-tailed deer rubs and scrapes: spatial, temporal and physical characteristics and social role», *Am Midl Nat*, 97: 257-266.
- Knight, T. W.; Gherardi, S. y Lindsay, D. R. (1987), «Effects of sexual stimulation on testicular size in the ram», *Animal Reproduction Science*, Volumen 13, Issue 2, April, pp. 105-115.
- Komers, P. E.; Birgersson, B. y Ekvall, K. (1999), «Timing of estrus in fallow deer is adjusted to the age of available mates», *Am Nat*, 153: 431-436.
- Krzywinski, A. y Bobek, B. (1984), «Semen collection from red deer males with a dummy», *Acta Zool Fennica*, 171: 175-178.
- Kucera, T. E. (1978), «Social behavior and breeding system of the desert mule deer», *J Mamm*, 59: 468-476.
- Langguth, A. y Jackson, J. (1980) «Cutaneous scent glands in pampas deer *Blastoceros bezoarticus* (Linneus 1758)», *Zeitschr Säuget*, 45: 82-90.
- Langvatn, R.; Mysterud, A.; Stenseth, N. C. y Yoccoz, N. G. (2004), «Timing and synchrony of ovulation in red deer constrained by short Northern summers», *Am Nat*, 163: 763-772.
- Lawson, R. E.; Putman, R. J. y Fielding, A. H. (2000), «Individual signatures in scent gland secretions of Eurasian deer», *J Zool*, 251: 399-410.
- (2001), «Chemical communication in Eurasian deer (*Cervidae*): do individual odours also code for attributes?», *J Zool*, 253: 91-99.
- Lehner, P. N. (1996), *Handbook of ethological methods*, 2a. ed. Cambridge Univ. Press. pp. 672.
- Lincoln, G. A. (1992), «Biology of seasonal breeding in deer», en Brown, R. D. (ed.), *The biology of deer*, Nueva York, Springer Verlag, pp. 565-574.
- Lincoln, G. A. y Short, R. V. (1980), «Seasonal breeding: Nature's contraceptive», *Recent Prog Horm Res*, 36: 1-52.
- Lombardi, R. (1993), *Mortalidad precoz y ciclos vitales en una población relictual de Ozotoceros bezoarticus del Uruguay*. Informe final, Programa MAB para jóvenes investigadores, Uruguay.
- Malpaux, B. (2006), «Seasonal regulation of reproduction in mammals», en Ed Neill, D. (ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3ª ed. Academic Press, EEUU, pp. 2231-2281.
- Martin, P. y Bateson, P. (1993), *Measuring behaviour*, 2a. ed., Cambridge Univ. Press, pp. 222.
- McClelland, B. E. (1991), «Courtship and agonistic in muflon sheep», *Appl Anim Behav Sci*, 29: 67-85.
- McComb, K. (1987), «Roaring by red deer stags advances the date of oestrus in hinds», *Nature*, London, 330: 648-649.
- Merino, L. M.; Gonzales, S.; Leeuwenberg, F.; Guimaraes-Rodríguez, F. H. y Moraes-Tomas, W. (1997), «Venado Camperiro (*Ozotoceros bezoarticus*)», en Barbanti-Duarte, J. M. (ed.), *Biología e Conservação de Cervídeos Sul-Americanos: Blastoceros, Ozotoceros e Mazama*, FUNESP, Brasil. pp. 41-58.

- Miller, K. V.; Jemiolo, B.; Gasset, J. W.; Jelinek, I.; Wiesler, D. y Novotny, M. (1998), «Putative chemical signals from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): Social and seasonal effects on urinary volatile excretion in males», *J Chem Ecol*, 24: 673-683.
- Miquelle, D. G. (1991), «Are moose mice? The function of scent urination in moose», *Am Nat*, 138: 460-477.
- Monfort, S. L.; Asher, G. W.; Wildt, E.; Wood, T. C.; Schieve, M. C.; Williamson, L. R.; Bush, M. y Rall, W. F. (1993), «Successful intrauterine insemination of Eld's Deer (*Cervus eldi thamin*) with frozen-thawed spermatozoa», *J Reprod Fertil*, 99: 459-465.
- Moniuszko, G. y Sirko, A. (2008), «Sulfur metabolism and its regulation in plants», *Postępy Biochem*, 54: 402-411.
- Moore, G. H. y Cowie, G. M. (1986), «Advancement of breeding in non-lactating adult red deer hinds», *Proc N Z Soc Anim Prod*, 46: 175-178.
- Müller-Schwarze, D. (1969), «Pheromone function of deer urine», *Am Zool*, 9: 570-578.
- (1971), «Pheromones in black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*)», *Anim Behav*, 19: 141-152.
- (1971), «Scents of monkeys and deer», *Am Psychol*, 26: 209-218.
- (1972), «Social significance of forehead rubbing in blacktailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*)», *Anim Behav*, 20: 788-797.
- (1987) «Evolution of Cervid Olfactory Communication», en *Biology and Management of the Cervidae*. Wemmer C. M. (ed.) Smithsonian Institution Press, Washington D. C.
- (2006), *The chemical ecology of vertebrates*, Cambridge Univ. Press, pp. 591.
- Müller-Schwarze, D.; Altieri, R. y Porter, N. (1984), «Alert odor from skin gland in deer», *J Chem Ecol*, 10: 1707-1729.
- Müller-Schwarze, D. y Müller-Schwarze, C. (1975), «Subspecies specificity of response to a mammalian social odor», *J Chem Ecol*, 1: 125-131.
- Müller-Schwarze, D.; Volkman, N. J. y Zemanek, K. F. (1977), «Osmetricchia-specialized scent hair in black-tailed deer», *J Ultrastr Res*, 59: 223-230.
- Parera, A. y Moreno, D. (2000), *El venado de las pampas en Corrientes, diagnóstico de su estado de conservación y propuestas de manejo: situación crítica*, Fundación Vida Silvestre (Argentina). pp. 40.
- Passanisi, W. C. y MacDonald, D. W. (1990), «Group discrimination on the basis of urine in a farm cat colony», en MacDonald, D. W.; Müller-Schwarze, D. y Natynczuk, S. E. (eds.), *Chemical signals in vertebrates*, Oxford, Oxford University Press, pp. 337-345.
- Pautasso, A. A.; Peña, M. I.; Mastropaolo, J. M. y Moggia, L. (2002), «Distribución y conservación del venado de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) en el norte de Santa Fe, Argentina», *J Neotr Mammal*, 9: 64-69.
- Pickard, A. R.; Holta, W. V.; Green, D. I.; Cano, M. y Abaigar, T. (2003) «Endocrine correlates of sexual behavior in the Mohor gazelle (*Gazella dama mhorh*)», *Horm Behav*, 44: 303-310.
- Poindron, P.; Levy, F. y Krehbiel, D. (1988), «Genital, olfactory, and endocrine interactions in the development of maternal behavior in the parturient ewe», *Psychoneuroendocrinology*, 13: 99-125.
- Post, E.; Bøving, P. S.; Pedersen, C. y MacArthur, M. A. (2003), «Synchrony between caribou calving and plant phenology in depredated and non-depredated populations», *Can J Zool*, 81: 1709-1714.
- Recuerda, P. y Arias de Reina, L. (1980), «Etograma del ciervo (*Cervus elaphus*) en período de no reproducción», Doñana, *Acta Vert*, 7: 229-248.
- Redford, K. H. (1987), «The pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in central Brazil», en Wemmer, C. (ed.), *Biology and management of the Cervidae*, Washington, Smithsonian Inst. Press, pp. 410-414.

- Redford, K. H. y Eisenberg, J. F. (1992), *Mammals of the neotropics*, Volume 2: The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay, Londres, University of Chicago Press, pp. 245-252.
- Sadleir, R. M. F. S. (1969), «The role of nutrition in the reproduction of wild mammals», *J Reprod Fertil*, 6: 39-48.
- Senar, J. C. (1990), «Vivir y convivir: La vida en grupos sociales», en Carranza, J. (ed.), *Etología: Introducción a la ciencia del comportamiento*, Madrid, Universidad de Extremadura, pp. 443-464.
- Shipka, M. P.; Rowell, J. E. y Ford, S. P. (2002), «Reindeer bull introduction affects the onset of the breeding season», *Anim Reprod Sci*, 72: 27-35.
- Smith, B. L. (1998), «Antler size and winter mortality of elk: effects of environment, birth year, and parasites», *J Mammal*, 79: 1038-1044.
- Sokolov, V. E. y Gromov, V. S. (1993), «Chemical communication in roe deer (*Capreolus*)», *Zoologicheskyy Zhurnal*, 72: 123-136.
- Soto, A.; Vallejos, P.; Mezino, M. I. y Carpiretti, B. M. (1995), «Obtención de semen por medio de vagina artificial en venado de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus Linneaus 1756*)», en X Jornadas Argentinas de Mastozoología, La Plata, pp. 61.
- Sun, L. X.; Xiao, B. y Dai, N. H. (1994), «Scent marking behavior in the male Chinese water deer», *Acta Theriol*, 39: 177-184.
- Tarifa, T. (1993), *Situación de la especie en Bolivia. Population and habitat viability assessment for the pampas deer Ozotoceros bezoarticus*, Briefing book, Rocha.
- Thomas, J. W.; Robinson, R. M. y Marburger, R. D. (1965), «Social behavior in a white tailed deer herd containing hypogonadal males», *J Mammal*, 46: 314-327.
- Thornback, J. y Jenkins, M. (1982), *The IUCN mammal red data book*, Part II. IUCN, Gland, Switzerland.
- Tomás, W. M. (1995), «Seasonality of the antler cycle of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus leucogaster*) from the Pantanal Wetland, Brazil», *St Neotr Fauna Env*, 30: 221-227.
- (1998), «Épocas de concepção e nascimentos do veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) no pantanal matogrossense», en XV Congresso Brasileiro de Zoologia, pp. 95.
- (1988), «Nota sobre a troca das galhadas pelo cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) e pelo veado campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*)», en XV Congresso Brasileiro de Zoologia, pp. 539.
- UICN (2008), «The IUCN red list of threatened species. *Ozotoceros bezoarticus* ssp. *Uruguayensis*» disponible en <<http://www.iucnredlist.org/search/details.php/40778/all>>
- Ungerfeld, R.; Ramos, M. A. y Bielli, A. (2007), «Relationship between male-male and male-female sexual behavior in 5-6-month old male lambs», *Anim Reprod Sci*, 100: 385-390.
- Ungerfeld, R. (2002), «Comportamiento reproductivo», en Ungerfeld, R. (ed.), *Reproducción en los animales domésticos*, Tomo 1, Montevideo, Melibea, pp. 175-189.
- (2007a), «Socio-sexual signalling and gonadal function: Opportunities for reproductive management in domestic ruminants», en Juengel, J. I.; Murray, J. F. y Smith, M. F. (eds.), *Reproduction in domestic ruminants*, VI, Nottingham, Nottingham University Press, pp. 207-221.
- (2007b), «Social factors and ovarian function», en González-Bulnes, A. (ed.), *Novel concepts in ovarian endocrinology*, Kerala, Transworld Research Network, pp. 169-221.
- Ungerfeld, R. y González-Pensado, S. P. (2008), «Social rank affects reproductive development in male lambs», *Anim Reprod Sci*, 109: 161-171.
- (2009), «Social dominance and courtship and mating behavior in rams in non-competitive and competitive pen tests», *Reprod Dom Anim*, 44: 44-47.
- Ungerfeld, R.; Ramos, M. A. y Bielli, A. (2007), «Relationship between male-male and male-female sexual behavior in 5-6-month old male lambs», *Anim Reprod Sci*, 100: 385-390.

- Ungerfeld, R. y Silva, L. (2004), «Ewe effect: endocrine and testicular changes in adult and young Corriedale rams used as teasers», *Anim Reprod Sci*, 80: 251-259.
- Verdier, I. (1989), «Comportamiento de macho de *Ozotoceros bezoarticus* en celo: Observaciones preliminares», Tesis de grado, Montevideo, Facultad de Ciencias, Udelar.
- Verme, L. J.; Ozoga, J. J. y Nellist, J. T. (1987), «Induced early estrus in penned white tailed does», *J Wildl Manag*, 51: 54-56.
- Vila, A. y Beade, M. (1997), «Situación de la población del venado de las pampas en la Bahía Samborombón», *Boletín Técnico*, 37, Fundación Vida Silvestre (Argentina), pp. 30.
- Waas, J. R.; Ingram, J. R. y Matthews, L. R. (1999), «Real-time physiological responses of red deer to translocations», *J Wild Manag*, 63: 1152-1162.
- Weber, M. y González, S. (2003), «Latin American deer diversity and conservation: A review of status and distribution», *Ecoscience*, 10: 443-454.
- Whitehead, G. K. (1972), *Deer of the world*, Londres, Constable.
- Whittle, C. L.; Bowyer, R. T.; Clausen, T. P. y Duffy, L. K. (2000), «Putative pheromones in urine of rutting male moose (*Alces alces*): evolution of honest advertisement?», *J Chem Ecol*, 26: 2747-2762.
- Wood, W. F. (2003), «Volatile components in metatarsal glands of sika deer, *Cervus nippon*», *J Chem Ecol*, 29: 2729-2733.
- (2004), «Straight and branched-chain fatty acids in preorbital glands of sika deer, *Cervus nippon*», *J Chem Ecol*, 30: 479-482.
- Wood, W. F.; Shaffer, T. B. y Kubo, A. (1995), «(E)-3-Tridecen-2-one, an antibiotic from the interdental glands of black-tailed deer *Odocoileus hemionus columbianus*», *Experientia*, 51: 368-369.
- (1995), «Volatile ketones from interdental glands of black-tailed deer, *Odocoileus hemionus columbianus*», *J Chem Ecol*, 21: 1401-1408.
- XiuXiang, M.; QiSen, Y.; Lin, X.; ZuoJian, F.; YingWen, J. y PeiMing, W. (2003), «The temporal estrous patterns of female alpine musk deer in captivity», *Appl Anim Behav Sci*, 82: 75-85.
- Yavas, Y. y Walton, J. S. (2000), «Postpartum acyclicity in suckled beef cows», *Theriogenology*, 54: 25-55.

Rodolfo Ungerfeld es Licenciado en Ciencias Biológicas, Máster en Ciencias (MSc), Doctor en Veterinaria (PhD). Se desempeña como profesor en el Departamento de Fisiología y es responsable del Laboratorio de Fisiología de la Reproducción de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República (Udelar). Es responsable de las actividades de investigación con venado de campo.

Solana González es Doctora en Ciencias Veterinarias, estudiante de Maestría y Ayudante del Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

Matías Villagrán es Doctor en Ciencias Veterinarias, estudiante de Maestría y Ayudante del Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

Alejandro Bielli es Doctor en Medicina y Tecnología Veterinaria, Máster en Ciencias (MSc), Doctor en Veterinaria (PhD). Se desempeña como profesor en el Departamento de Histología de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

Carmen Rossini es Química Farmacéutica, Doctora en Neurobiología y Comportamiento (PhD), profesora responsable del Laboratorio de Ecología Química de la Facultad de Química de la Udelar.

Jéssica Morales es Doctora en Ciencias Veterinarias, estudiante de Maestría y Ayudante del Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

William Pérez es estudiante de Maestría y profesor de Anatomía de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

Juan Pablo Damián es Doctor en Medicina y Tecnología Veterinaria, estudiante de Maestría y profesor del Departamento de Biología Molecular y Celular de la Facultad de Veterinaria de la Udelar.

