

**DIETA Y AMBIENTES ASOCIADOS EN UNGULADOS ACTUALES Y FÓSILES
(FORMACIÓN SOPAS, PLEISTOCENO TARDÍO) DE URUGUAY,
UTILIZANDO ISOTOPOS ESTABLES.**

TESIS DE DOCTORADO

ELIZABETH MOROSI

Orientador: Dr. Martín Ubilla

**Tribunal: Dr. Daniel Perea, Dra. Susana González, Dr. Mario André Trindade
Dantas**

PEDECIBA-Universidad de la Republica. Uruguay

2021

Agradecimientos

A los curadores de Colecciones de Mastozoología y Paleontología:

SG. Susana González
MNHN. Enrique González, Andrés Rinderknecht
ZVCM. Melita Meneghel, Ernesto Martínez
MACN. Sergio Lucero, David Flores.
MLP. Diego Verzi, Itatí Olivares.
FC-DPV. Alejandra Rojas
C. Martin Ghizzoni
SR. Andrés Sánchez
MHD-P José Solovij

Al personal de Laboratorios:

Paul Dennis y Alina Marca. SIL at UEA.
Terry Donnelly, Jason Newton y Rona McNeall. SUERC at UG.

-A todas aquellas personas (que han sido muchas) y se han visto involucradas de una u otra manera en el aporte de ideas, ubicación de fósiles, y en la realización y mejoramiento de esta investigación.

-Al tribunal: Mário Dantas, Susana González y Daniel Perea.

-A mi tutor Martin Ubilla.

-A Jorge (mi esposo), por su continuo respaldo a lo largo del tiempo.

-Pero especialmente a Paola (mi hija), sin cuyo apoyo, inestimable ayuda y compañía en el peregrinaje a través de los diferentes museos y colecciones, además del trabajo fotográfico por ella realizado, no habríamos podido concretar esta investigación.

ÍNDICE

Agradecimientos	i
Índice.....	ii
RESUMEN.....	
1	
1 – INTRODUCCION Y ESTRUCTURA DE LA TESIS ...	4
1.1. Introducción a la isotopía estable	4
1.1.1. Isótopos en tejidos óseos.....	9
1.1.2. Efecto Suess.....	11
1.1.3. SIMM Modelos bayesianos.....	12
1.2. Características de la unidad sedimentaria	13
1.3. Estructura de tesis.....	15
Bibliografía.....	17
2 – OBJETIVOS	23
2.1. Objetivo general.....	23
2.2. Objetivos específicos.....	23
3 – MATERIALES Y METODO	26
3.1. Materiales	26
3.2. Métodos	28
3.2.1. isotope Ratio Mass Spectrometry ...	29
References	31
4 – Feeding strategies based on stable isotopes $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ in <i>Mazama gouazoubira</i> of Uruguay and comparisons with other Neotropical brocket deer species.	32
1. Introduction.....	34
1.1. Dietary classifications.....	38
2. Study area	38
3. Isotopic background	40
3.1. Metabolic pathways in plants (C_3 and C_4)	40
3.2. Isotopes in mammals.....	42
4. Materials and methods.....	43
4.1. Materials.....	43
4.2. Methods.....	46
4.2.1. Isotopic analyses.....	47
4.2.2. Suess Effect.....	48
4.2.3. Quantitative procedures.....	51
5. Results.....	52

6. Discussion	60
6.1. Interpretations of diets of Uruguayan Mazama.....	60
6.2. Comparisons with Argentinean Mazama.....	62
References.....	68
5- Inferencias dietarias en <i>Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis</i> y <i>O. b. uruguayensis</i> mediante isotopía estable.....	
1. Introducción	81
1.1. Área de estudio	83
1.2. Dieta.....	88
1.3. Plantas. Rutas metabólicas C ₃ y C ₄	91
1.4. Isótopos en animales	92
2. Objetivos	93
2.1. General.....	93
2.2. Específicos.....	94
3. Materiales y métodos.....	95
3.1. Materiales	95
3.2. Métodos.....	96
3.2.1. Toma de muestras de <i>O. bezoarticus</i>	96
3.2.2. Análisis isotópicos	97
3.2.3. Efecto Suess	98
3.2.3.1. Efecto Suess en Plantas	98
3.2.3.2. Efecto Suess en <i>Ozotoceros bezoarticus</i>	99
3.2.4. Análisis cuantitativos	100
4. Resultados	102
4.1. Efecto Suess	102
4.1.1. Corrección por Efecto Suess de la vegetación.....	104
4.1.2. Corrección por Efecto Suess de <i>O. bezoarticus</i>	108
5. Discusión	112
5.1. <i>O. b. arerunguaensis</i>	112
5.2. <i>O. b. uruguayensis</i>	114
5.3. <i>O. b. celer</i> y <i>O. b. leucogaster</i>	116
5.4. Comparación entre poblaciones de <i>O. bezoarticus</i>	119
5.5. Hembras y juveniles.....	122
6. Conclusiones generales	126
7. Referencias	128
Material suplementario.....	144
6 – Inferencia dietaria y ambientes asociados de ciervos fósiles de la Formación Sopas (Pleistoceno tardío), Uruguay.	
1. Introducción.....	149
2. Objetivos.....	153
3. Marco geológico y paleontológico	153
4. Estrategias de alimentación	155
5. Marco isotópico.....	157
5.1. El efecto Suess	159
6. Materiales y métodos	161

6.1. Materiales	161
6.2. Métodos.....	163
7. Resultados	165
7.1. Línea de isotópica de base y corrección por efecto Suess.....	165
7.2. Resultados en ciervos fósiles.....	170
8. Discusión	172
8.1. Gradiente latitudinal C ₃ -C ₄	180
9. Conclusiones.....	182
Referencias Bibliográficas	184
7 – Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). Quaternary Science Review. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025	196
Supplementary material	206
8 –Carbon stable isotopes in fossil horses reflect climatic and environmental changes during MIS-3 in northern Uruguay.....	218
1. Introduction.....	218
2. Geographic and Geological Setting	221
3. Materials and methods	225
3.1. Materials	225
3.2. Methods.....	225
4. Results	229
5. Discussion.....	231
6. Conclusions	238
7. References.....	240
8. Appendix.....	251
9 - Dietary and palaeoenvironmental inferences in <i>Neolicaphrium recens</i> Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). Historical Biology 31, 196-202.....	254
10- Resúmenes presentados en reuniones científicas.....	270
11- Consideraciones finales	286

RESUMEN

Esta tesis tiene como objetivo, inferir estrategias alimentarias y ambientes asociados en cérvidos actuales y ungulados fósiles inmigrantes y autóctonos, pertenecientes a la Formación Sopas (Pleistoceno superior), mediante la utilización de herramientas de isotopía estable. En todos los especímenes estudiados, se utilizó la fracción mineral del esmalte dental, a la que se le aplicó el fraccionamiento de $\delta^{13}\text{C}$ de 14,1‰, entre presas (plantas) y depredadores (herbívoros). Los datos así obtenidos, se corrigieron por Efecto Suess, que es el cambio producido en el $\delta^{13}\text{C}$ de la composición atmosférica, (debido al CO_2 antropogénico), el que afecta a todos los seres vivos, seguidos de la aplicación de Modelos Mixtos bayesianos para transformar el $\delta^{13}\text{C}$ de los ungulados en porcentaje de plantas C_3 en la dieta. Esto permite comparar, los resultados isotópicos con datos sobre dieta obtenidos por otros métodos no isotópicos. Los isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, han permitido deducir la dieta de *Mazama gouazoubira* como frugívoro-ramoneador C_3 en áreas boscosas con dosel, sin importar en cual de las áreas estudiadas se encuentre, mientras que *Ozotoceros bezoarticus* presenta una dieta ramoneadora-pastadora $\text{C}_3\text{-C}_4$, adaptadas a las condiciones del ambiente. Estas dietas, han sido validadas con los datos isotópicos de las plantas del entorno y por otros autores con diferentes

metodologías. Con los resultados de los cérvidos actuales, se construyó la primera línea isotópica de base del Uruguay, con la que se calibraron los datos de ungulados fósiles. En un set de muestras fósiles de Cervidae indet., los resultados permiten inferir un amplio rango de dietas mixtas, en ambientes que van desde praderas a bosque con y sin dosel. Muestras de los taxones *Morenelaphus* sp., *M. brachyceros* y *Paraceros fragilis* (de los que no se disponía de información previa), se deduce una dieta, también mixta pero más acotada, en un ecotono de bosque sin dosel y pradera, mientras que restos fósiles atribuidos a *Ozotoceros bezoarticus* muestran una dieta mixta, similar a la de los ejemplares actuales de la misma zona. De *Neolicaphrium recens*, un proterotérico escasamente conocido y del que no se posee suficiente información, se infiere una dieta frugívora ramoneadora C₃, preferentemente de zonas arboladas sin dosel. En Uruguay hubo dos especies de caballos, de los que se infieren dietas isotópicamente diferentes, *Hippidion principale* era un ramoneador-pastador C₃, de zonas boscosas sin dosel y *Equus neogeus* era un pastador mixto de pastos C₃-C₄ en áreas abiertas o poco arboladas, lo que podría sustentar la hipótesis de simpatría, previamente propuesta. Los datos isotópicos fueron complementados con análisis de hipsodoncia y estudios en juveniles. Un análisis preliminar sugiere, que hubo cambios en los porcentajes C₃-C₄ de la dieta de los caballos entre los 50 y 30 ka. Posiblemente debido a los frentes polares antárticos mas frecuentes, que prevalecieron en la segunda mitad del MIS-3, propiciando un clima más frío, lo que favoreció que el ecotono C₃-C₄, se moviera de sur a norte, variando la

composicion de la vegetación en el norte de Uruguay. Los datos de las especies analizadas, permitieron no solo inferir sus hábitos alimenticios, sino también contribuir con la reconstrucción de los ambientes del Pleistoceno tardío en el norte de Uruguay.

La señal isotópica considerada globalmente, sustenta en la Fm. Sopas la presencia de ambientes abiertos de pradera y sabana, así como también áreas boscosas con y sin dosel, lo que apoya la diversidad de hábitat previamente propuesto por otros autores y corrobora el contexto ambiental asociado a la fauna de mamíferos de la Fm. Sopas entre los 50 y 30 ka.

1. INTRODUCCION Y ESTRUCTURA DE TESIS

En este capítulo, dividido en tres partes, se introducirán primeramente los conceptos fundamentales sobre isotopía estable, seguido de una breve caracterización de la Formación Sopas, descripción sedimentaria, su contenido fosilífero, edad, ambientes, clima y por último una breve descripción de la estructura de la tesis.

1.1. Introducción a la isotopía estable

Con el fin de obtener respuestas, a algunas de las preguntas planteadas con referencia a la fauna de la Formación Sopas de Uruguay y los ambientes en los que esta se desarrolló, encontramos que la composición isotópica es una herramienta muy útil, en la reconstrucción de distintos tipos de dieta. En Uruguay, la utilización de marcadores geoquímicos es relativamente reciente y en ungulados actuales o fósiles inmigrantes, es bastante escasa.

Desde la década de 1970, el uso de la isotopía estable como proxy, se ha incrementado en diferentes campos de la biología, incluyendo la paleontología (MacFadden et al., 1999; Domingo et al., 2019; Dantas et al., 2013, entre otros).

Una de sus aplicaciones más comunes es estimar la contribución de las fuentes en una mezcla (dieta en este caso), midiendo la composición isotópica de diferentes elementos (carbono, oxígeno, nitrógeno, etc.) (Ben-David and Flaherty, 2012).

Con la composición isotópica de los tejidos animales, se puede deducir la asimilación de diferentes fuentes de alimentación y realizar inferencias acerca de las dietas animales y los ambientes asociados (Ben-David and Flaherty, 2012; Bocherens and Drucker, 2013; Crawford et al., 2008; Van der Merwe and Medina, 1989).

De forma breve, los isótopos radiactivos, tienen un exceso de energía nuclear, que los hace inestables, por lo cual, sufren lo que se conoce como desintegración radiactiva, la que puede producir isótopos estables o nuevos radioisótopos, con los que se vuelve a repetir el proceso. Los isótopos estables, son átomos con el mismo número de protones y electrones y con diferente número de neutrones, pero no tienen exceso de energía, por lo que son estables y no decaen. Los isótopos estables de un elemento tienen un comportamiento químico similar, pero durante ciertos procesos, la proporción de átomos pesados y livianos cambia en relación a un patrón o estándar (DeNiro and Epstein, 1978, 1981; Tieszen et al., 1991).

Estos cambios en la proporción isotópica, que en los seres vivos se encuentran mediados por procesos enzimáticos, pueden presentar niveles de enriquecimiento (valores isotópicos relativamente más positivos) o empobrecimiento (valores isotópicos relativamente más negativos). Este proceso se

conoce como “fraccionamiento isotópico” y causa efectos mensurables en la composición isotópica de una muestra dada (Ben-Davis and Flaherty, 2012).

Las proporciones de los isotopos estables, se expresan como valores delta (δ) y son calculados en unidades por mil (‰), las que se relacionan con escalas internacionales (Peterson and Fry, 1987).

$$\delta \text{ ‰} = (R \text{ muestra}/R \text{ estándar} - 1) \times 1000$$

donde R muestra y R estándar (ecuación simplificada), son las proporciones de la muestra y el estándar respectivamente (Cerling & Harris, 1999).

La variación isotópica dentro de los ecosistemas o entre ellos, se crea mediante procesos bioquímicos en el primer paso de la fotosíntesis (Newsome et al., 2012). La principal razón de este fraccionamiento, es que la incorporación de carbono en las plantas depende de las rutas metabólicas que estas posean, las que producen un fraccionamiento diferencial, con distintos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Bender 1971).

Para la fijación del carbono, en las plantas terrestres, existen tres rutas metabólicas principales:

- a- La vía del ciclo de Calvin (vía fotosintética C_3), que tiene un $\delta^{13}\text{C}$ entre $-35,0$ y $-25,0$ ‰.
- b- En la vía de Hatch-Slack (vía fotosintética C_4), el $\delta^{13}\text{C}$ varía entre $-19,0$ y $-9,0$ ‰.

c- La tercera vía, es una adaptación a los ambientes áridos llamada CAM (crassulacean acid metabolism) que presenta valores intermedios, pero casi no hay ungulados que se alimenten de ellas (Bender, 1971; MacFadden and Shockey, 1997).

Se les llama plantas C_3 o C_4 , porque la primera molécula de azúcar que se forma tiene 3 o 4 carbonos respectivamente, dependiendo de la ruta fotosintética que siga (Ambrose and DeNiro, 1986; Bender, 1971).

La vía fotosintética C_4 , es una adaptación evolutiva en respuesta a las condiciones climáticas cambiantes, tiene una alta eficiencia fotosintética en ambientes áridos con elevadas temperaturas (Sage, 2004). Esta vía, tiene dos subtipos bioquímicos principales, el que utiliza la enzima primaria de descarboxilación NAD (Nicotiamida-Adenina Dinucleótido) y el que utiliza la NADP (Nicotinamida-Adenina Dinucleótido fosfato). La composición isotópica de las plantas C_4 que utilizan la vía de la NADP, se encuentran sistemáticamente enriquecidas en ^{13}C , comparados con aquellas que usan la vía de la NAD. Esto se debe a que tienen requerimientos diferentes, en cuanto a la cantidad de agua que necesitan para realizar fotosíntesis (Sage, 2004).

Las variaciones isotópicas que se encuentran en las plantas C_3 , se deben a varios factores ligados fundamentalmente a la disposición de agua y a la incidencia solar (van der Merwe and Medina, 1989). Aquellas que crecen en ambientes xéricos se encuentran relativamente enriquecidas en $\delta^{13}C$, con valores comparativamente

altos de -22,0 ‰ y las que crecen en áreas boscosas, en los estratos bajos del dosel pueden tener valores empobrecidos de -36 ‰ o inclusive menores (Ben-David and Flaherty, 2012; Cerling and Harris, 1999; van der Merwe and Medina, 1989).

Con referencia al $\delta^{18}\text{O}$, sucintamente, se considera como línea de base el valor del $\delta^{18}\text{O}$ que tiene el agua de lluvia en un área en particular, a partir del cual se producen los distintos fraccionamientos. En Uruguay, actualmente el agua de las precipitaciones tiene un $\delta^{18}\text{O}$ de -5.5 ‰, VPDB (tomado de IAEA. International Atomic Energy Agency), a partir del cual se evalúa el enriquecimiento o empobrecimiento trófico o ambiental.

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ relativamente empobrecidos, indican que las plantas crecieron en los estratos inferiores de bosques o zonas forestadas, donde tienen un menor recambio de CO_2 y menor incidencia de la luz solar (Druker et al., 2008). En los ambientes abiertos, en los que hay mayor incidencia solar y estrés evaporativo, las plantas tienden a ser más eficientes en el uso del agua y funcionar con menores niveles de respiración, pero tienen que seguir absorbiendo CO_2 para el crecimiento, lo que lleva a un proceso de enriquecimiento del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ (Van der Merwe and Medina, 1991; Bocherens and Drucker, 2013; Nelson, 2013).

Como resultado de estas diferencias isotópicas en la vegetación, generadas por las distintas vías fotosintéticas y los factores ambientales, se pueden rastrear los tipos de dietas herbívoras (Cerling et al., 1997; van der Merwe and Medina, 1989, 1991). Estos tipos de proxies, tiene un valor ecológico importante, si se trabaja con especies crípticas o ejemplares fósiles.

1.1.1. Isótopos en tejidos óseos

Los huesos y dientes, están compuestos por una fracción orgánica (colágeno), con la que se puede analizar carbono y nitrógeno y una inorgánica o fracción mineral, compuesta por fosfato de calcio o hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). La que en general contiene varias impurezas, entre ellas los carbonatos (CO_3), que son en los que se analizan las proporciones de carbono y oxígeno (Bocherens y Drucker, 2013). De la misma manera, se pueden analizar los isótopos de H (hidrógeno), Sr (estroncio), Ca (calcio), P (fósforo), S (azufre), etc.

Como mencionamos, el carbono presente en los distintos organismos, proviene de la dieta, algunos de los nutrientes son tomados directamente por los diferentes tejidos, mientras que otros son utilizados para sintetizar moléculas de Novo. El carbono que pertenece a las proteínas de la dieta, se incorporará preferentemente a las proteínas del consumidor y no a otras macromoléculas, como por ejemplo los lípidos (Schwarcz, 1991). De la misma forma, los lípidos asimilados sintetizarán grasa animal o serán consumidos como energía. Por este motivo, dependiendo del tejido muestreado se puede llegar a subestimar o sobrevalorar, alguna de las fuentes de alimentación (Martínez del Rio and Carleton, 2012).

Se eligió utilizar el análisis de los carbonatos en la hidroxiapatita en esmalte dental, puesto que se considera que permanece como un sistema cerrado por más

tiempo y es un registro confiable de la dieta en su totalidad (Cerling et al., 1997; Lee-Thorp and van der Merwe, 1987; van der Merwe et al., 1991; Wang and Cerling, 1994).

Existe una diferencia isotópica sistemática, entre la presa y los tejidos del consumidor, que se conoce como fraccionamiento o “enriquecimiento trófico” (Newsome et al., 2013). En el esmalte dental de los herbívoros, el enriquecimiento trófico es de $14,1 \pm 0,5$ ‰, el que se aplica a una gran variedad de mamíferos de más de 5 Kg de peso (Cerling and Harris, 1999). Tejada-Lara et al. en 2018, proponen que hay una relación entre la masa del animal y el enriquecimiento isotópico, con lo que observan diferencia en el fraccionamiento entre los taxa de mayor masa (*Mylodon*) y los de menor masa (*Bradypus*).

Si bien consideramos que el método de Tejada-Lara et al. (2018), es mucho más preciso, no pudimos utilizarlo para calcular el enriquecimiento isotópico de los ejemplares con los que se trabajó. Esto es debido a que, durante el proceso de colecta de muestras, que fue previo (2014-2016) a la publicación de Tejada_Lara et al. (2018), no se consideró recabar la información numérica de las piezas dentales, que se utiliza para estimar masas, porque íbamos a aplicar el modelo de Cerling y Harris (1999) y no era necesario. Además, la diferencia observada en el efecto es mayor en los extremos con las masas corporales de menos de 1kg o mayores de 1.000 kg, estando los taxones en estudio en el rango intermedio donde la afectación no provoca cambios drásticos de la interpretación.

La información obtenida mediante análisis isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$), en el esmalte dental de ungulados fósiles y de cérvidos contemporáneos, permite realizar inferencias sobre los tipos de dieta de la paleofauna objeto de estudio. Estos datos a su vez, posibilitan realizar reconstrucciones paleoclimáticas y ecológicas relacionadas con las formas extintas. En este caso, poniendo a prueba algunas de las hipótesis biogeográficas, paleoecológicas y climático-ambientales propuestas por otros autores o formular nuevas respecto a los procesos involucrados (vide infra)

1.1.2. Efecto Suess

Los valores atmosféricos del CO_2 actuales, se encuentran empobrecidos en su proporción $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$) (Francey et al., 1999; Friedli et al., 1986), esto es debido a la emisión de CO_2 antropogénico, el que se incrementó con la industrialización y la quema de combustibles fósiles (Efecto Suess). Este empobrecimiento ha llevado al $\delta^{13}\text{C}$ de los valores preindustriales de -6.5‰ a -8.0‰ en el año 2000 A.D. (Keeling et al., 2011). Esta disminución en el $\delta^{13}\text{C}$, afecta a casi todos los organismos vivos, por lo que se corrige agregándole $+1.5\text{‰}$, en ejemplares fósiles o arqueológicos, para poder compararlos con las escalas actuales (Cerling and Harris, 1999; Friedli et al., 1986; Tiezen, 1999). En el caso de plantas y animales, que nacieron o crecieron luego del comienzo de la era industrial, se corrigen cada uno de los datos isotópicos por separado, tomando en consideración el año de colecta de las plantas o el de nacimiento de los animales.

1.1.3. SIMM - Modelos mixtos bayesianos.

Los SIMMs (stable isotope mixing models), son modelos que mediante una transformación log-ratio (Parnell et al., 2013), se utilizan para calcular la contribución proporcional de las fuentes (plantas C₃ y C₄) en una mezcla (dieta). A través de esta transformación, se pueden aplicar una gama de series temporales y relaciones de homogeneidad no-paramétrica (Parnell et al., 2013). Hay que tomar en consideración que, los tejidos del consumidor reflejarán la composición de la dieta asimilada, no necesariamente de la ingesta total, que puede tener partes que no son digeribles, por lo tanto, no se absorben. La parte de la dieta que es digerida, luego de algunas pérdidas debidas a la respiración y la excreción, es asimilada en los tejidos animales (Newsome et al., 2012). Estos procesos fisiológicos, a veces ocurren en diferentes proporciones para compuestos que contienen los isótopos pesados o livianos de carbono (¹³C o ¹²C) debido a la diferencia en las masas (Newsome et al., 2012).

La aplicación más extendida, de este modelo estadístico multivariado, es la cuantificación de las dietas de distintos organismos, utilizando las fuentes alimenticias corregidas por diversos factores metabólicos (Newsome, 2012). Los porcentajes así obtenidos, pueden ser comparados con otros tipos tradicionales de resultados dietarios (Parnell et al., 2013).

1.2. Características de la unidad sedimentaria portadora de fósiles.

La Formación Sopas, es una unidad sedimentaria del Pleistoceno Tardío Continental, se encuentra localizada en el norte de Uruguay, en los Departamentos de: Artigas, Salto, Tacuarembó, Paysandú y Río Negro (Ubilla et al., 2004).

En base a los resultados de análisis de ^{14}C (carbono 14) y OSL (Luminiscencia ópticamente estimulada), varios afloramientos de la Fm. Sopas tendrían una edad de entre los 60 y 25 ka, lo que la ubica en el contexto del Marine Isotope Stage 3 o MIS-3 (Ubilla et al., 2004, 2016), mientras que algunos afloramientos poseen edades finipleistocénicas.

Las características litológicas de la misma, son analizadas en detalle en Ubilla et al. (2004). En general, tiene un patrón de distribución irregular de afloramientos junto a ríos y arroyos. Se compone de niveles basales de conglomerados, de arena media a gruesa y niveles arcillosos o limosos pertenecientes a facies fluviales, junto a la evolución de paleosuelos, incluyendo bioturbación a veces importantes y en el tope presenta niveles carbonáticos (Martínez and Ubilla, 2004; Ubilla et al., 2016)

En esta Formación, han sido excavados distintos restos fósiles ya sean trazas o de cuerpo (que incluyen vertebrados, moluscos y restos vegetales), pertenecientes a taxa tanto extintos como actuales, en el que los mamíferos son el grupo dominante (Ubilla et al., 2004, 2016; Manzuetti et al., 2019, entre otros).

Un aspecto a resaltar, es que la fauna de la Fm. Sopas está compuesta por una gran mayoría de especies alopátridas, incluyendo algunas con distribución en áreas tropicales y templadas, así como otras de la región patagónica de la Argentina (Ubilla et al., 2016). Dentro del registro faunístico hay taxa indicativos de distintos tipos de hábitat, vinculados a climas áridos y fríos (*Dolichotis sp.*, *Lama vicugna*, *Hemiauchenia sp*), praderas (*Ozotoceros bezoarticus*, *Equus neogeus*), áreas boscosas (*Hippidion principale*), zonas tropicales y templadas (*Tapirus terrestris*), o de ríos, arroyos y ambientes pantanosos (*Hydrochoerus hydrochaeris*, *Myocastor coypus* entre otros) (Ubilla et al., 2016). Ambientes estos que tienen interesantes patrones biogeográficos, producidos en contextos diferentes, por procesos diferentes, que no se superponen hoy en día y son una contradicción climática (Bond et al. 2001; Ubilla, 2004; Ubilla and Perea, 1999; Ubilla et al., 2016). Los taxa tropicales/templados sugieren condiciones ambientales distintas, si se las comparan con la típica fauna Lujanense, la que fue influenciada por el Último Máximo Glacial. Este patrón climático y ambiental tan complejo, ha generado varias hipótesis (Ubilla et al., 2016), e modelos de reemplazo o mixto de fauna:

- a- El contenido fósil de la Fm. Sopas, es una consecuencia de los rápidos cambios climáticos (de pocos milenios), que sucedieron en el MIS-3.
- b- Existe un efecto de “time-averaging”, que amalgama a los fósiles de diferentes, edades, ambientes y climas.

- c- Los fósiles representativos de zonas tropicales, podrían pertenecer al MIS-5, y cuando el clima comenzó a enfriarse, los animales fueron desarrollando adaptaciones a climas más áridos y fríos.
- d- Las especies de climas tropicales o templados podrían haber permanecidos en “refugios”, generados por ríos permanentes, bosques ribereños o zonas semi forestadas.

1.3. Estructura de tesis

La presente tesis incluye capítulos inéditos y al mismo tiempo, artículos ya publicados en revistas de distribución internacional, como adelantos de la misma. Así como otros ya redactados en inglés, previstos para enviar a revisión en publicaciones internacionales arbitradas y otros con formato de capítulo.

En el Capítulo 2, se plantean los objetivos de la tesis.

El capítulo 3, trata sobre los materiales y métodos, se da una descripción del proceso por el cual se obtuvieron las muestras para análisis isotópicos y referimos a determinados capítulos, para una descripción detallada de las distintas metodologías. Las referencias bibliográficas se encuentran al final de cada capítulo.

En el capítulo 4, redactado en inglés, analizamos los resultados isotópicos de *Mazama gouazoubira* contemporáneo de Uruguay y ejemplares comparativos de la Argentina, también contemporáneos.

En el capítulo 5, se desarrolla el estudio de las dos poblaciones de *Ozotoceros bezoarticus* vivientes en Uruguay y comparamos los resultados con los de otras poblaciones de *Ozotoceros* de Argentina actuales.

En base a la información obtenida en los capítulos previos, en el 6 se estudia la dieta y ambientes asociados en Cérvidos fósiles incluyendo a *Morenelaphus sp.*, *M. brachyceros*, *Ozotoceros cf. bezoarticus* y *Paraceros fragilis*.

El capítulo 7, es un artículo que se encuentra publicado en revista de distribución internacional, como avance de tesis y estudia la dieta y ambientes asociados en las dos especies de caballos fósiles *Equus neogeus* e *Hippidion principale*, donde además de los datos isotópicos, utilizamos el índice de hipsodoncia, para identificar hábitos dietarios.

En el capítulo 8, con los datos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ tomados del capítulo previo, sumado a estudios palinológicos y de temperaturas antárticas (disponibles en la literatura), evaluamos si los rápidos cambios climáticos (de pocos milenios), que se estima se produjeron en el norte de Uruguay entre los 50 y 30 ka, tuvieron alguna incidencia en la dieta de *Equus neogeus* e *Hippidion principale*.

El capítulo 9, trabajo publicado como parte de avance de la tesis, explora mediante $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ el tipo de dieta y los ambientes asociados, del ungulado extinto *Neolicaphrium recens*, del cual hasta este momento no había información disponible.

Finalizando se adicionan un capítulo con los Resúmenes presentados en reuniones científicas y, por último, se incluyen "Consideraciones finales y perspectivas" .

Bibliografía.

AIAE International Atomic Energy Agency. Available from:
<https://www.iaea.org/about/statute>

Ambrose, S.H., DeNiro, M.J., 1986. The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*. 69(3):395–406.

Bender, MM. 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry* 10 (6), 1239e1244.

Ben-David, M., Flaherty, E. 2012. Stable isotopes in mammalian research: a beginner's guide. American Society of Mammalogists.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1644/11-MAMM-S-166.1>

Bocherens, H., Drucker, D.G., 2013. Terrestrial teeth and bones. In: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1. Elsevier, Amsterdam, pp. 304e314.

Bond, M., Perea, D., Ubilla, M., Tauber, A. 2001. *Neolicaphrium recens*

- Frenguelli, 1921, the only surviving Proterotheriidae (Litopterna, Mammalia) into the South American Pleistocene. *Paleovertebr.* 30:37–50.
- Cerling, TE., Harris, JM. 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia.* 120(3):347–363.
- Cerling TE, Harris JM, MacFadden BJ, Leakey MG, Quade J, Eisenmann V, Ehleringer JR. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature.* 389(6647):153–158.
- Crawford, K., McDonald, RA, Bearhop. S. 2008. Applications of stable isotope techniques to the ecology of mammals. *Mammal Rev.* 2008, Volume 38, No. 1, 87–107.
- Dantas et al., 2013 Dantas, MAT., Dutra, RP., Cherkinsky, A., Fortier, DC., Kamino, LHY., Cozzuol, MA., Vieira, FS. 2013. Paleoecology and radiocarbon dating of the Pleistocene megafauna of the Brazilian Intertropical Region. *Quat Res.* 79(01):61–65.
- Domingos Luz, L., Parolin, M., Ruiz Pessenda, LC., Rasbold, GG., Lo, E. 2019. Multiproxy Analysis (Phytoliths, Stable Isotopes, and C/N) As Indicators of Paleoenvironmental Changes in A Cerrado Site, Southern Brazil. *Revista Brasileira de Paleontología*, 22(1):15–29, Janeiro/Abril 2019. doi:10.4072/rbp.2019.1.02
- DeNiro, M. and Epstein, S. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals., 1978, Vol. 42. pp. 495 to 506.

- DeNiro & Epstein. 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1981. Vol. 45. pp341 to 351.
- Francey, R.J., Colin, A.C., Trudinger, C.M., Langenfelds, R.L. 1999. A 1000-year high precision record of $\delta^{13}\text{C}$ in atmospheric CO_2 . *Tellus B* 51, 170_193.
- Friedli et al., 1986; Friedli, H., Lotscher, H., Oeschger, H., Siegenthaler, U., Stauffer, B., 1986. Ice core record of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of atmospheric carbon dioxide in the past two centuries. *Nature* 324, 237e238.
- Keeling et al., 2011 Keeling, C., Piper, S., Whorf, T., Keeling, R., 2011. Evolution of natural and anthropogenic fluxes of atmospheric CO_2 from 1957 to 2003. *Tellus* 63B, 1e22.
- Lee-Thorp and van der Merwe 1987 Thorp J.L., Van Der Merwe N.J. 1987. Carbon isotope analysis of fossil bone apatite. *S Afr J Sci.* 83(11):712–715.
- MacFadden and Shockey, 1997 MacFadden, B.J., Shockey, B., 1997. Ancient feeding ecology and niche differentiation of Pleistocene mammalian herbivores from Tarija, Bolivia: morphological and isotopic evidence. *Paleobiology* 23, 77e100.
- MacFadden et al., 1999 MacFadden B.J., Cerling T.E., Harris J.M., Prado J. 1999. Ancient latitudinal gradients of C_3/C_4 grasses interpreted from stable isotopes of New World Pleistocene horse (*Equus*) teeth. *Glob Ecol Biogeogr.* 8(2):137–149.
- Manzuetti, A., Perea, D., Ubilla, M., Rinderknecht, A., 2019. First record of *Smilodon fatalis* Leidy, 1869 (Felidae, Machairodontinae) in the extra-andean region of

- South America (late Pleistocene, Sopas Formation), Uruguay: taxonomic and paleobiogeographic implications. *Quat. Sci. Rev.* 180, 57e62.
- Martínez, S., Ubilla, M. 2004. El Cuaternario en Uruguay. In: Veroslavsky G, Ubilla M, Martínez S (eds) Cuencas sedimentarias de Uruguay. Geología, Paleontología y Recursos Naturales. Cenozoico. DIRAC-FC, Montevideo
- Martínez del Rio, C., Carleton, S. 2012. How fast and how faithful: the dynamics of isotopic incorporation into animal tissues. *Journal of Mammalogy*, 93(2):353–359.
- Nelson SV. 2013. Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 280(1773):20132324.
- Newsome SD, Yeakel JD, Wheatley PV, Tinker MT. 2012. Tools for quantifying isotopic niche space and dietary variation at the individual and population level. *Journal of Mammalogy* 93:329–341.
- Parnell et al., 2013. Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One*. 5(3):e9672.
- Peterson and Fry 1987 Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Sys.* 18(1):293–320. Phillips D. 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing models. *J Mam.* 93(2):342–352.
- Sage RF. 2004. The evolution of C₄ photosynthesis. *New Phytologist* 161:341–70.

- Schwarcz, H. P., and M. J. Schoeninger. 1991. Stable isotope analysis in human nutritional ecology. *Yearbook of Physical Anthropology* 34:283-321.
- Tieszen, LL. 1991. Natural variations in the carbon isotope values of plants: Implications for archaeology, ecology, and paleoecology. *Journal of Archaeological Science* 18: 227–248
- Ubilla M. 2004. Mammalian biostratigraphy of Pleistocene fluvial deposits in northern Uruguay, South America. *Proc Geol Assoc.* 115:347–357.
- Ubilla M, Perea D. 1999. Quaternary vertebrates of Uruguay: biostratigraphic, biogeographic and climatic overview. *Quat South Am and Antarct Pen.* 12:75–90.
- Ubilla, M., Perea, D., Goso, C., Lorenzo, N., 2004. Late Pleistocene vertebrates from northern Uruguay: tools for biostratigraphy, climatic and environmental reconstruction. *Quaternary International* 114, 129-142.
- Ubilla et al., 2016. Ubilla M, Corona A, Rinderknecht A, Perea D, Verde M. 2016. Marine Isotope Stage 3 (MIS 3) and continental beds from Northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini GM, Rabassa J, Deschamps MC, Tonni EP, editors. *Marine Isotope Stage 3 in Southern South America, 60 KA BP-30 KA BP. Serie Springer earth system sciences.* Cham: Springer International Publishing; p. 183–205.
- Van der Merwe and Medina, 1989. Van der Merwe NJ, Medina E. 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochim Cosmochim Acta.* 53(5):1091–1094.

- Van der Merwe and Medina, 1991; Van der Merwe NJ, Medina E. 1991. The canopy effect, carbon isotope ratios and foodwebs in Amazonia. *J Archaeol Sci.* 18(3):249–259.
- Wang and Cerling 1994 Wang Y, Cerling TE. 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 107:281–289.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Construir una línea de base isotópica, utilizando $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, obtenidos de las especies *Mazama gouazoubira* y *Ozotoceros bezoarticus* contemporáneas y calibrarla con la flora de las correspondientes eco-zonas de Uruguay. Teniendo en cuenta esta información, junto con las de otros proxies, inferir estrategias alimenticias y ambientes asociados de ungulados fósiles seleccionados, pertenecientes a la Formación Sopas (Pleistoceno tardío).

2.2. Objetivos Específicos

- Inferir las estrategias alimenticias de *Mazama gouazoubira* contemporáneo, usando isótopos estables y evaluar si las mismas están en concordancia con la flora de las áreas que habita y con la dieta previamente descrita por medios no isotópicos en estudios independientes.
- Identificar el o los tipos de dieta, mediante isótopos estables de carbono y oxígeno de las dos poblaciones de *Ozotoceros bezoarticus* actuales

que viven en Uruguay, así como muestras de especímenes de poblaciones de Argentina con fines comparativos. Evaluar si están en relación con la flora de las áreas que habitan y con los tipos de dieta previamente descriptos por otros autores, mediante métodos no isotópicos. Evaluar si existen diferencias isotópicas en la dieta, debido al sexo o estado ontogenético.

- Deducir las estrategias alimenticias de un set de muestras de los cérvidos fósiles, incluyendo a *Morenelaphus sp.*, *M. brachyceros*, *Ozotoceros cf. bezoarticus* y *Paraceros fragilis*, pertenecientes a la Formación Sopas de Uruguay (Pleistoceno tardío, 50-30 ka), utilizando isotopía estable. Comparar estos resultados con los tipos de dieta previamente descriptos, en los casos disponibles por medios no isotópicos en estudios independientes.
- Utilizar datos isotópicos, junto con el índice de hipsodoncia, como indicadores de dieta de *Equus neogeus* e *Hippidion principale*, pertenecientes a la Fm. Sopas. Inferir los ambientes asociados y evaluar la hipótesis, propuesta por otros autores, de simpatría entre ambas especies.
- Analizar la eventual conexión, entre los tipos de dieta de *Equus neogeus* e *Hippidion principale* inferidos y los rápidos cambios climáticos (de pocos milenios), que se estima se produjeron en el norte de Uruguay entre los 50 y 30 ka, utilizando estudios palinológicos y de variación climática antártica, disponibles en la literatura.

- Inferir mediante isotopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, las preferencias dietarias y ambientes asociados de *Neolicaphrium recens*, referidos a la Fm. Sopas entre los 50 y 30 ka.
- Evaluar si los datos isotópicos apoyan la diversidad de hábitat y el contexto ambiental asociado a la fauna descrita para la Fm. Sopas, en el Pleistoceno tardío (50-30 ka), previamente propuestos por otros autores.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Utilizando el Sistema Nacional de Museos se seleccionaron tres colecciones de Mastozoología, de donde se tomaron muestras de esmalte dental de *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama gouazoubira*. Posteriormente se agregaron dos colecciones más de Argentina, de donde se obtuvieron muestras de cérvidos, con fines comparativos.

Las siguientes abreviaturas y su significado son las utilizadas e incluidas en capítulos subsiguientes:

- ZVCM - Zoología de Vertebrados Colección de Mastozoología. Facultad de Ciencias, UdelaR. Montevideo, Uruguay.
- MNHN – Museo Nacional de Historia Natural, Colección de Mastozoología, Montevideo, Uruguay
- SG – Colección Susana González. IIBCE, UdelaR. Montevideo, Uruguay.
- MLP- Museo de La Plata, Colección de Mastozoología. La Plata, Argentina
- MNCN – Museo Nacional de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", Colección Mastozoológica. Buenos Aires, Argentina

Para la obtención de muestras en ejemplares fósiles pertenecientes a la Formación Sopas, se seleccionaron tres Colecciones de Paleontología públicas y una privada en Uruguay. De las mismas se colectaron muestras de los diferentes taxones de ungulados estudiados.

Las siguientes abreviaturas y su significado son las utilizadas e incluidas en capítulos subsiguientes:

- MNHN – Museo Nacional de Historia Natural, Colección de Paleontología. Montevideo, Uruguay.
- MHN-P – Museo Histórico Departamental, Colección de Paleontología. Depto. Artigas, Uruguay.
- FC-DPV – Facultad de Ciencias. Departamento de Paleontología. Colección Paleontológica-Vertebrados de la Facultad de Ciencias, , Udelar. Montevideo, Uruguay.
- C - Colección Privada Ghizzoni – Depto. Salto, Uruguay.

En todas las colecciones, al momento de tomar las muestras, se utilizó la misma metodología. Primero un estudio de disponibilidad, evaluación y selección de materiales, lo que implicó revisión de catálogos, inventarios según localidad y estado de conservación. Se realizaron sesiones fotográficas antes y luego de la extracción de muestras, con el fin de identificar los distintos especímenes.

Es importante destacar, el tiempo que insume conseguir una sola muestra, desde que se contacta al curador hasta que se envía al laboratorio ya pretratada,

es de aproximadamente 25 horas. Esto se debe a que el proceso de selección es largo (taxa, localidad, sexo, estado de preservación), con tres o cuatro visitas a cada colección. Mas el tiempo que insume la toma de la muestra y el pretratamiento para la extracción de materia orgánica y carbonatos exógenos.

Los materiales seleccionados, de los que efectivamente se colectaron muestras y estas fueron analizadas isotópicamente se encuentran listados en cada uno de los capítulos correspondientes.

Los laboratorios donde se procesaron muestras y se obtuvieron resultados, se indican en los capítulos subsiguientes con las siguientes abreviaturas:

- GNS: Geological and Nuclear Science Laboratory (New Zealand).
- SIL, UEA: Stable Isotope Laboratories, School of Environmental Sciences, University of East Anglia, England.
- SUERC: Scottish Universities Environmental Research Center (Glasgow University)

3.2. Métodos

Los métodos de: muestreo de esmalte dental, con toma de muestras a granel (bulk samples), pretratamientos, técnicas isotópicas, Efecto Suess, SIMMS (modelos bayesianos mixtos), rutas fotosintéticas, enriquecimiento isotópico, y

análisis cuantitativos, se encuentran desarrollados en detalle en los capítulos 4, 7, 9 y en el material suplementario del capítulo 7 y 9.

Con los resultados de *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama gouazoubira* se construyó un patrón de control isotópico y se probó su potencial para la predictibilidad trófica y ambiental y así poder utilizarlo en los especímenes fósiles.

3.2.1. Isotope-Ratio Mass Spectrometry (IRMS)

IRMS es una especialización de la espectrometría de masas, que permite medir la abundancia relativa de los isótopos en una muestra dada, con relación a un patrón previamente establecido (VSMOW, VPDB)

Los dos tipos más comunes de espectrómetros IRMS, son el de flujo continuo y el de entrada dual (Coplen, 1994), en este trabajo se utilizó IRMS de entrada dual.

En términos generales, las muestras (en nuestro caso el CO_3 de la hidroxiapatita del esmalte dental) se convierten en CO_2 , haciéndolas reaccionar con ácido fosfórico (H_3PO_4).

El CO_2 gaseoso, se inyecta en el espectrómetro de masas, donde las muestras se alternan rápidamente con un gas estándar, de composición isotópica conocida, (por ejemplo, CO_2 producido por mármol de Carrara). Los gases son ionizados y acelerados en un tubo de vuelo que se encuentra al vacío, donde un

fuerte imán desvía los átomos y los separa en función de la masa. Posteriormente los gases son recolectados en copas Faraday, que crean una corriente eléctrica débil, la que se mide utilizando un detector multiplicador o amplificador, controlado por un ordenador (Michener y Lajtha 2007).

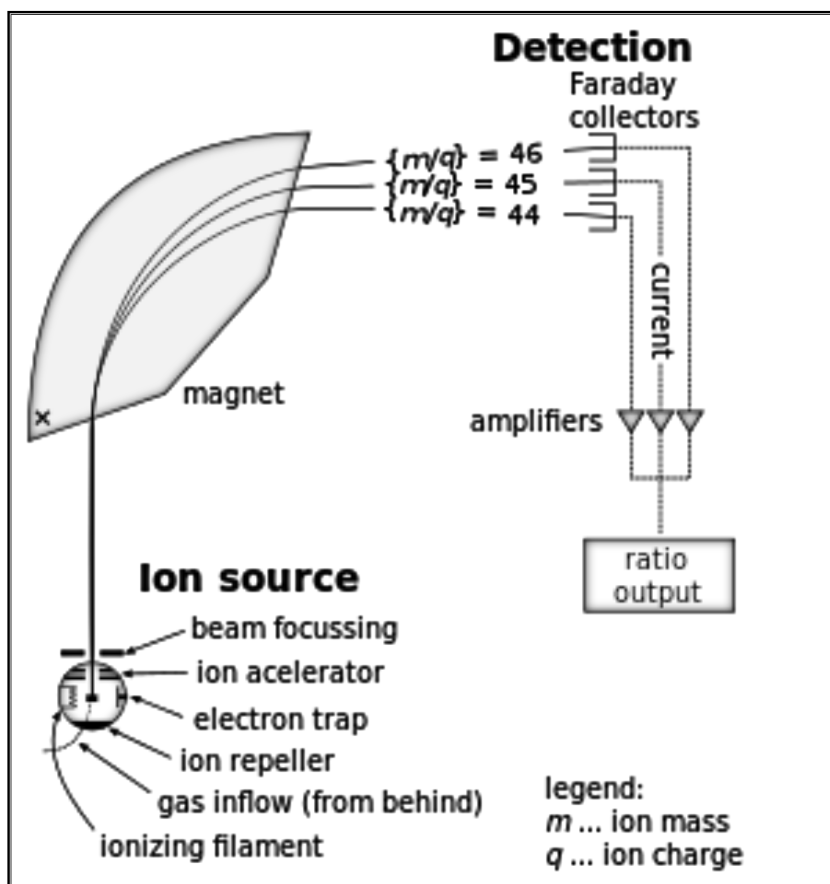


Fig. 1. Esquema de un espectrómetro de masa. (Imagen de dominio público, proveniente de USGS (United states Geological Survey)).

IRMS es una técnica que permite medir el fraccionamiento isotópico. El fraccionamiento, es un proceso que se da naturalmente y es causado por procesos físico-químicos o biológicos indistintamente, que puede inducir a variaciones en la

composición isotópica. La medición de esas variaciones puede revelar información acerca del origen y/o procesos que han afectado el material a analizar.

IRMS es un método de elección, para el estudio de dietas y tramas tróficas, ya que proporciona picos de alta calidad, factor importante en los análisis isotópicos de precisión y exactitud (Michener y Lajtha 2007).

Referencias

Coplen, TB.1994. Reporting of stable hydrogen, carbon, and oxygen isotopic abundances. Pure Appl. Chem. 66 (2), 273e276.

Michener, R., Lajtha, K. 2007. Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science, 2nd edition., New York: Wiley-Blackwell

CAPÍTULO 4

Feeding strategies based on stable isotopes $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ in *Mazama gouazoubira* of Uruguay and comparisons with other Neotropical brocket deer species. 5 figs., 6 tablas.

Este capítulo de la tesis, es el primer estudio sobre *Mazama gouazoubira* de las poblaciones de la Cuenca Sedimentaria Gondwanica (GSB) en el norte del país y de la Cuenca de la Laguna Merín y las Sierras del Este en el sureste de Uruguay, utilizando isotopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$.

El objetivo es inferir las estrategias alimentarias y ambientes asociados de ambas poblaciones y evaluar si los datos isotopicos están en concordancia con la flora del área que habitan y con las dietas previamente descritas mediante estudios no isotópicos independientes.

En una segunda etapa, con los datos de *Mazama* y los de *Ozotoceros bezoarticus* (capítulo 5), se construirá una línea de base isotópica, la que se validará con los datos de la flora de la ecozona que habitan. Este patrón, es el que utilizaremos en las investigaciones con los fósiles de la Formación Sopas, que conforman el resto de esta Tesis.

Encontramos que *M. gouazoubira*, independientemente de la zona que habita tiene una dieta ramoneadora C₃, con un efecto dosel mas o menos pronunciado. Los datos de los ejemplares de la GSB, se encuentran entre los valores calculados en base a la vegetación, mientras que los datos de $\delta^{13}\text{C}$ de la MLB y ES están algo empobrecidos. Esta diferencia se podría explicar si se considera una alimentación en áreas con una mayor cobertura boscosa, que la frugivoría era parte importante de la dieta o que se alimentaran de algun cultivo C₃ de las inmediaciones.

Comparamos estos resultados con los obtenidos con *M. gouazoubira* de diferentes zonas fitogeográficas de Argentina y encontramos que si bien, todos tienen dietas ramoneadoras, estas se adaptan a la oferta de los diferentes ambientes. Los datos de *M. americana* indican que, a pesar de vivir en la selva Paranaense, presenta valores de $\delta^{13}\text{C}$ enriquecidos, los que se explicarían por un posible forrajeo de cultivos C₄.

Por último, los datos isotópicos del poco conocido *M. nana*, indican dietas muy similares a los *M. gouazoubira* de la GSB del norte de Uruguay, con un consumo preferente de plantas que crecen en los estratos inferiores de bosques y arbustales, con efecto dosel y preferencia por la frugivoría.

1. Introduction

Since their incorporation into the South American fauna from the Nearctic during the Great American Biotic Interchange, deer radiated quickly in the Neotropics, evolving into many extant and extinct genera (Cione et al., 2015; Woodburne, 2010; Menegaz and Ortiz Jaureguizar, 1995). Paleontological records of deer start at the early-mid Pleistocene (Cione et al., 2015), and molecular analysis suggests that at least eight ancestral forms migrated to South America during the late Pliocene (Barbanti et al., 2008). The extant species of Neotropical deer are adapted to several habitats, from closed forests to open environments in highlands and lowlands (Merino and Viera, 2010). This radiation may have been facilitated by the absence of other artiodactyls such as bovids, a scenario opposite to that in Africa (Webb, 2000). Their adaptations include intrinsic factors (morphological, physiological and behavioral traits), that maximize their efficient use of natural resources (Putman, 1988) and extrinsic factors, such as spatial and temporal distribution of vegetation (Illius and Gordon, 1999).

The genus *Mazama* Rafinesque 1817 includes 9 to 10 extant species, and taxonomic controversies are pending resolution (Valli, 2018; Solari et al., 2013; Wilson and Reeder, 2005). Indeed, in the light of recent molecular studies a polyphyletic status for *Mazama* has been invoked (Barbanti et al., 2008; Gilbert et al., 2006; Hassanin et al., 2012; Heckeberg et al., 2016; Heckeberg, 2020). The genus *Mazama* has been mostly referred to the late Pleistocene and Holocene from

several paleontological and archaeological sites of South America, including Uruguay (Guérin and Fauret, 2009; Ubilla et al., 2016; Valli, 2018 and references therein). Only two native deer inhabit Uruguay: The pampas deer *Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758, and the brown brocket deer *Mazama gouazoubira* Fischer, 1814 (Black-Decima and Vogliotti, 2016).

Mazama gouazoubira is a small to medium-sized deer (body mass of 20-25 kg, 50 cm average height at shoulder) with grayish brown to reddish brown color and does not exhibit pronounced sexual dimorphism (Duarte, 1996; Weber and Gonzalez, 2003; Black-Decima and Vogliotti, 2016 and references therein). It lives in diverse environments, from relatively humid locations to dry zones, with areas of woody or bush cover; this species avoids open areas and dense forest but occupies their borders. It can be found throughout northeastern, central and southern Brazil (including the Brazilian Atlantic Forest, Cerrado and Caatinga), most of Bolivia, Paraguay, Uruguay (riparian forest of campos), and central/northern Argentina (Duarte, 1996; Black Decima and Vogliotti, 2016 and references therein; Weber and Gonzalez, 2003) (Fig. 1).

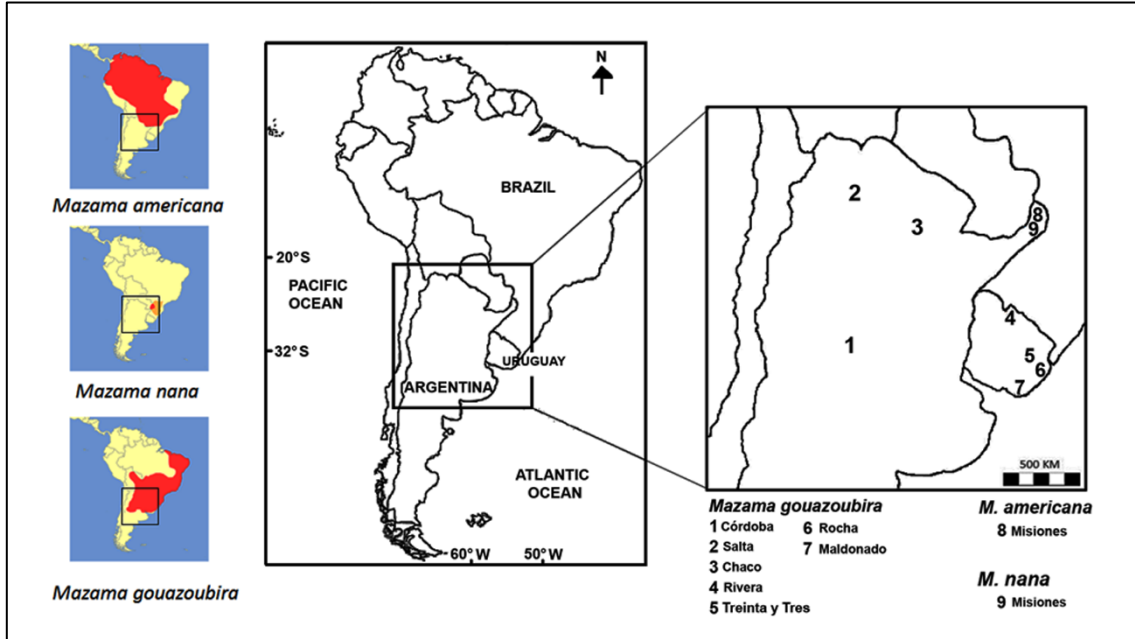


Figure 1. Left: geographic distribution of the brocket deer species studied (modified from IUCN: <https://www.iucnredlist.org/>); Center: geographic area encompassing the analyzed samples; Right: locations of samples from central and northern Argentina and from northern and eastern Uruguay.

The brown brocket deer is considered a browser, feeding on a wide variety of plant species, and it is a selective consumer of hard and fleshy fruits from trees (Richard and Julia, 1995; Richard and Rada, 2006) but also eats leaves, buds, flowers, twigs, and roots depending on the area, season and availability (Richard and Julia, 1995; Black Decima and Vogliotti, 2016; Medeiros, 2013).

The species of the genus selected for comparison with *M. gouazoubira* of Uruguay include, the red brocket deer *Mazama americana* (Erxleben, 1777), the Brazilian dwarf brocket deer *Mazama nana* (Hensel, 1872) and *M. gouazoubira*, all from Argentina.

Mazama americana is the largest and most robust species of *Mazama*, with an average body mass of 30 kg and ranging up to 40 kg; height at shoulder is approximately 65 cm (Duarte, 1996). It inhabits closed forest throughout the region from northern Colombia to northern Argentina (Duarte and Vogliotti, 2016) (Fig. 1). It is predominantly frugivorous, but occasionally during the dry season incorporates leaves into its diet (Duarte and Vogliotti, 2016; Medeiros, 2013).

Mazama nana is a small brocket, with a body mass rarely exceeding 15 kg, and 45 cm height at shoulder (Duarte 1996). It has a patchy distribution and occurs in northeastern Argentina, adjacent areas in Paraguay, and southern Brazil, mostly around the Araucaria Forest and adjacent areas (Duarte et al., 2015) (Fig. 1). Little is known about its behavior and feeding ecology, but they are presumed to be similar to the overall pattern seen in *Mazama* (Duarte et al., 2015).

The goals of this paper, are to provide isotopic data from the two populations of *M. gouazoubira* of Uruguay and infer the type(s) of food strategies, using stable isotopes as proxies, to assess whether these data are consistent with the surrounding vegetation and with the type of diet previously described by non-isotopic methods and finally to compare with data from Argentinian *M. gouazoubira*, *M. americana* and *M. nana*. We will determine if, independently of the species and biogeographic area they occupy, these deer share similar isotopic diet, feeding in or near forested areas.

1.1 Dietary classification

Herbivores may have a variety of diets and therefore different dietary classifications have been proposed. One of the most widely used classifications (and the one we are going to use), is based on the type of plants consumed (Hofmann and Steward, 1972; Hofmann, 1985), in which herbivorous mammals are classified into: grazers, whose diet contains at least 75 % grasses; browsers, those for which at least 75 % of the diet consists of dicot leaves, fruits, twigs and shrubs and finally, the intermediate or mixed herbivores which select foraging strategies according to availability and choose both pastures and tree parts (Hofmann, 1985).

2. Study area

Uruguay belongs to the Pampean Biogeographic Province (Morrone, 2014) and although lying within a region dominated by grasslands, the country features a high richness of tree and shrub species (Haretche et al., 2012). The comparison of Uruguayan tree and bush species richness with that of neighboring regions offers further support for the idea that there are differences between the flora of Uruguay and the flora of the rest of the Pampean biogeographic Province (Del Puerto, 1987; Grela, 2004). Analysis of species composition emphasizes the transitional nature of the Uruguayan flora from the Pampas grasslands to the Chaco and Paranaense forests. Several plant species characteristics of the Paranaense Province (Benvenuti-Ferreira and Cohelo, 2009) are present in Uruguay, as are species that

are dominant in the Chaco and Espinal Provinces (Brazeiro et al., 2015; Haretche et al., 2012). Meadows occupy 80 % of the land, and approximately 4.5 % of the landcover consists of forests, which are quite varied (e.g., gallery forest, serrano, ravine, coastal), and wooded savannahs (e.g., carob, shins, palm trees), along with wetland areas (Brazeiro, 2015). The transitional nature, coupled with diverse ecosystems, allows a high number of animal and plant species of various biogeographical affinities to inhabit the country (Brazeiro, 2015).

Uruguay has been divided into seven eco-zones which correspond mainly to geomorphologic units, integrating environmental and biological variables (Brazeiro, 2012, 2015). The Uruguayan specimens of *M. gouazoubira* derive from three different eco-zones. The Gondwanic Sedimentary Basin ecozone (GSB) in the North, the Eastern Sierras (ES) and the Merím Lagoon Basin (BML) in the Southeast (Fig. 2)

The comparative samples of *M. gouazoubira* come from Córdoba, Chaco and Salta Provinces and *M. americana* and *M. nana* from Misiones Province, all of them from Argentina.

Córdoba and Chaco Provinces belong to the biogeographical Province of the Chaco, in particular the Dry Chaco. This is mostly a closed, thorny xerophilic forest, alternating with grasslands and savannahs in the vicinity of the rivers that cross it; also, there are some mountain forests (Burkat et al., 1999; Torella and Adamoli, 2005)

In the southeast of the Province of Salta the Dry Chaco is widespread, but in the northwest (from where the specimen MACN 47205 would come from) there is an ecotone of Yungas. Yungas are discontinuously distributed, integrated with the mountainous and transitional forest (Burkat, 1999).

The Misiones Province, whose territory is almost completely occupied by the Paranaense Biogeographic Province, is a humid subtropical forest, with three or four vegetative strata in dense tree coverage (Torrella and Adamoli, 2005; Burkat et al., 1999; Moreno, 1993).

3. Isotopic background

3.1. Metabolic pathways in plants (C_3 and C_4)

Photosynthetic pathways in plants impart different $^{13}C/^{12}C$ ratios ($\delta^{13}C$), due to a process called isotopic fractionation which occurs in the photosynthetic tissues of plants (Bender 1971).

Tropical pastures that use the Hatch-Slack metabolic pathway (photosynthetic route C_4) are relatively enriched in the heavy carbon isotope (^{13}C), and their isotopic values of $\delta^{13}C$ range from -19.0 to -9.0 ‰, with an average of -13‰ (Ehleringer et al., 1987, 1991; Cerling et al., 1997).

Plants that use the Calvin fixation cycle (photosynthetic route C₃) include most trees and shrubs, as well as grasses that grow in temperate regions. They are relatively depleted of ¹³C, and typically $\delta^{13}\text{C}$ ranges from -35.0 to -22.0 ‰, with an average of -27.0 ‰. (Ehleringer et al., 1986, 1991; Cerling et al., 1997). There is also a third photosynthetic route, called CAM (crassulacean acid metabolism), with intermediate values, which is an adaptation to arid environments, but very few ungulates use these plants for food.

In terrestrial environment, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of enamel are affected by the degree of water and light stress plant undergo (Bocherens 2013; Nelson 2013). Depleted values correspond to plants that grow in forests or with some type of coverage at soil level, this is because they have little replacement of CO₂ and low sunlight and in consequence experience less evaporative stress. Plants with more enriched $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values, grow in open environments such as grasslands and savannas, or in upper canopies portions of the plants or the entire plants grow at the upper levels of the canopy, where light and evaporative stresses are higher (Van der Merwe and Medina, 1991; Bocherens, 2013; Nelson, 2013).

Because of the different photosynthetic pathways, carbon isotopes serve as natural markers that can be followed through the diet, as $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ in animal tissues reflects the $\delta^{13}\text{C}$ from the food sources and environments (Ambrose and DeNiro, 1986; Nelson S., 2017; Newsome et al., 2012; van der Merwe and Medina, 1989).

3.2. Isotopes in mammals

The $\delta^{13}\text{C}$ in the animals determines the fraction of assimilated C_3 or C_4 biomass (Cerling and Harris 1999), making it a very useful tool for reconstruction of diets of both extant (van der Merwe and Medina, 1991) and fossil mammals (MacFadden et al., 1996; Cerling et al., 1997). Stable isotopes have been shown to provide a reliable and cost-effective alternative to observational or gut-content data (Newsome et al., 2009, Newsome and Clementz, 2010), which have traditionally been used to assess dietary specialization at the individual level (Estes et al., 2003; Tinker et al., 2008; Werner and Sherry, 1987).

The isotopes of carbon and oxygen in dental enamel in particular, reflect the isotopic values of the whole diet and water ingested during their formation (van der Merwe and Medina, 1991; Cerling et al., 1997). When $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ data are analyzed together, they can help to infer ecological characteristics (Crowley, 2014), such as habitat type and preference for certain foods, and can indicate which parts of the plants have been commonly eaten (branches, flowers, leaves, shoots, fruits, etc.).

To infer the *Mazama* diet, the $\delta^{13}\text{C}$ values were compared with those proposed by Cerling and Harris (1999), which distinguish guilds among mammals, after taking into account a $\delta^{13}\text{C}$ enrichment ($14,1 \pm 0.5 \text{ ‰}$) between food and tooth bioapatite for wild mammals (>5 kg). Tooth enamel with $\delta^{13}\text{C}$ ranging from -22 to

–13 ‰ is considered to belong to a C₃-browsing mammal and indicates feeding on trees, shrubs and floor plants in a closed-canopy woodland environment.

This is due to photosynthetic use of ¹³C of depleted CO₂, from biomass recycling and lower light intensities (van der Merwe and Medina, 1989; Drucker et al., 2008), whereas less negative $\delta^{13}\text{C}$ between –13 and –9 ‰ indicates feeding preferences for riparian or semi open forest (Cerling and Harris, 1999).

A level of $\delta^{13}\text{C}$ of +1 ‰ or greater reflects a diet of pure grazing on C₄ grasses or sedges in environments with hot, wet growing seasons, and a $\delta^{13}\text{C}$ between –9 and +1 ‰ suggests various degrees of mixed (C₃/C₄) or intermediate feeding (Hofmann and Stewart, 1972; Cerling and Harris, 1999). These values are not threshold points for pure C₃ or C₄ diets but instead represent the assimilated part of diets, that are dominated by one particular photosynthetic pathway (Cerling and Harris, 1999). For animals feeding in forests or shrublands, the depletion of $\delta^{13}\text{C}$ in tooth enamel can be considered directly proportional to the degree of closure of the habitat; the more depleted the $\delta^{13}\text{C}$, the more pronounced is the canopy effect.

4. Materials and methods

4.1. Materials

Institutional abbreviations: MNHN: Colección de Mamíferos del Museo Nacional de Historia Natural, Montevideo, Uruguay; ZVCM: Zoología de Vertebrados Colección de Mastozoología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay; MACN-Ma: Sección

Mamíferos, Museo Argentino de Ciencias Naturales, Buenos Aires, Argentina. GNS: Geological and Nuclear Science Laboratory (New Zealand).

All specimens sampled were taken from mammal collections and are listed under the corresponding taxa (Table 1). The *Mazama gouazoubira* samples of Uruguay belong to populations from the GSB in the Northern Uruguay (N =5), and from the ES and MLB in the Southeastern (N = 6) (Fig 2).

Table 1. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of Uruguayan specimens of *M. gouazoubira*, and Argentinian specimens of *M. gouazoubira*, *M. americana* and *M. nana*. SIL ID = GNS Laboratory ID; Gondwanic Sedimentary Basin = GSB; Merin Lagoon Basin = MLB; Eastern Sierras = ES; Uruguay = UY; Argentina = AR.

SIL ID	Collection	Taxon	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$	Prov or Zone	Country
C-1400196	ZVCM 50	<i>M. gouazoubira</i>	-16,62	-4,56	MLB	UY (SE)
G-1304146	MNHN 895	<i>M. gouazoubira</i>	-15,23	-3,98	MLB	UY (SE)
G-1304144	MNHN 3067	<i>M. gouazoubira</i>	-15,26	-4,66	ES	UY (SE)
C-1400212	MNHN 6265	<i>M. gouazoubira</i>	-16,11	-3,09	ES	UY (SE)
G-1304145	MNHN 6266	<i>M. gouazoubira</i>	-17,64	-5,51	MLB	UY (SE)
C-1400198	ZVCM 5546	<i>M. gouazoubira</i>	-16,84	-4,43	MLB	UY (SE)
C-1500167	ZVCM 1330	<i>M. gouazoubira</i>	-13,85	-3,80	GSB	UY (N)
G-1304150	MNHN 1383	<i>M. gouazoubira</i>	-14,63	-4,68	GSB	UY (N)
C-1500156	ZVCM 5035	<i>M. gouazoubira</i>	-15,18	-4,72	GSB	UY (N)
C-1400197	ZVCM 1769	<i>M. gouazoubira</i>	-15,68	-4,33	GSB	UY (N)
G-1304151	MNHN 6434	<i>M. gouazoubira</i>	-17,04	-6,30	GSB	UY (N)
C-1500154	MACN 5032	<i>M. americana</i>	-13,59	-4,88	Misiones	AR (N)
C-1500152	MACN 25767	<i>M. americana</i>	-15,77	-5,27	Misiones	AR (N)
C-1500153	MACN 48293	<i>M. americana</i>	-12,17	-6,61	Misiones	AR (N)
C-1500155	MACN 26111	<i>M. nana</i>	-14,11	-3,41	Misiones	AR (N)
C-1500151	MACN 24689	<i>M. nana</i>	-15,53	-6,90	Misiones	AR (N)
C-1500149	MACN 24176	<i>M. gouazoubira</i>	-12,23	-5,31	Chaco	AR (N)
C-1500150	MACN 13563	<i>M. gouazoubira</i>	-13,04	0,74	Córdoba	AR (C)
C-1500158	MACN 47205	<i>M. gouazoubira</i>	-15,41	-2,40	Salta	AR (NW)

The species of the genus selected for comparisons with *M. gouazoubira* of Uruguay included the red brocket deer *Mazama americana* (Erxleben, 1777), $N = 3$; the Brazilian dwarf brocket deer *Mazama nana* (Hensel, 1872), $N = 2$, both from Misiones Province in northern Argentina and *M. gouazoubira* from Salta ($N = 1$), Cordoba ($N = 1$) and Chaco Provinces ($N = 1$). (Table 1).

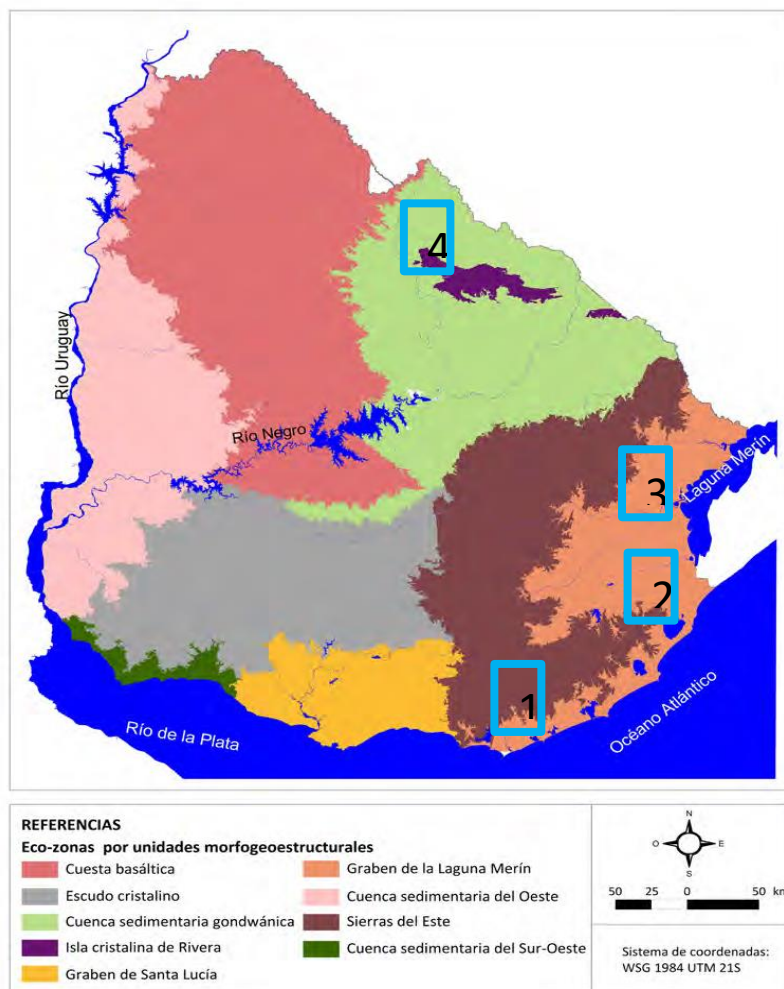


figure 2. Uruguayan eco-zones showing where *M. gouazoubira* were found: 1- Eastern Sierras (brown); 2- and 3- Merin Lagoon Basin (Orange) in the Southeast and 4- Gondwanic Sedimentary Basin (green) in the North of the country (taken from Brazeiro et al., 2015)

All selected specimens were wild male adults, taking into account enamel preservation and locality of origin. Argentinian specimens were taken to evaluate possible variations in diets, because they belong to different biogeographic provinces in comparison with the Uruguayan population.

4.2. Methods

Given that our objective is to construct the whole diets of extant *Mazama* species, first and second molars (M1, m1, M2 or m2) were not employed, since they start to grow prior to birth, and the isotopic signals would reflect maternal inputs from milk (Wright and Schwarcz, 1998; Dupras and Tocheri, 2007). Third molars (M3 or m3) were selected for sampling, as they are among the last ones to develop, mineralize, and erupt in ungulates (Hillson, 1986).

The inorganic fraction of tooth enamel was chosen, since it records the diet as a whole, whereas organic collagen reflects mostly the protein fraction (Krueger and Sullivan, 1984; Bocherens and Drucker, 2013). In addition, tooth enamel is maintained as a relatively closed system; it is more difficult for diagenetic changes to affect it to the same extent as happens with bones, and enamel thus serves as a realistic record of diet in fossils (Wang and Cerling, 1994; Koch et al., 1997).

Another reason for choosing the mineral phase is that the data presented here are also used to generate an isotope baseline for comparative purposes. It will be used to compare data from fossil deer and other ungulates in ongoing studies in Uruguay and elsewhere in the Neotropics (Morosi and Ubilla, 2017, 2019).

Bulk enamel samples were collected in a standardized manner by drilling all along a non-occlusal surface parallel to the growth axis and across its entire length. Special care was taken to avoid contamination in the process of sampling, starting with a scrupulously clean drill bit and area of the tooth to be sampled, drilling gently at a low speed, collecting the powder and chips that fell onto a piece of aluminum foil (Koch et al., 1997). Approximately 100 mg of powder was collected and ground into finer powder using an agate mortar and pestle. An enamel sample prepared in this way provides an average isotopic signal for the whole growth period of the tooth.

4.2.1. Isotopic analyses

Isotopic analyses were performed using isotope ratio mass spectrometry (IRMS) at the Mass Spectrometry Isotope Facility at GNS (www.gns.cri.nz/nic/stableisotopes), New Zealand, on the GVI IsoPrime Carbonate Preparation System at a reaction temperature of 25°C for 24 hours and run via dual inlet on an IsoPrime Mass Spectrometer, following the protocol previously set for enamel samples.

The isotopic results for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ are reported relative to Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB), normalized to internal standards using GNS Marble, with reported values of 2.04 ‰ for $\delta^{13}\text{C}$ and -1.80 ‰ for $\delta^{18}\text{O}$. The analytical precision for these measurements was better than 0.10 ‰ for $\delta^{13}\text{C}$ and 0.20 ‰ for $\delta^{18}\text{O}$ (source: GNS Laboratory).

Carbon and oxygen isotopic ratios are reported in standard notation as $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$, and calculated in units of per mil (‰), which relate to international scales (Peterson and Fry 1987). The results are reported relative to the isotope standard, using the notation (δ):

$$\delta^{13}\text{C} = (\text{R sample} / \text{R standard} - 1) \times 1000$$

where R sample and R standard are the ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of sample and standard relative to the international carbonate standard Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB).

4.2.2. Suess Effect

Throughout the past two centuries, industrialization and other anthropogenic activities such as burning fossil fuels and land use have altered emission of CO_2 , which is strongly depleted in its stable $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) relative to atmospheric CO_2 , a mechanism known as the “ ^{13}C Suess effect” (Keeling et al., 1979; Cerling and Harris, 1999). This shift in $\delta^{13}\text{C}$ is reflected in almost all living organisms, and consequently in specimens younger than 200 years, the Suess Effect needs to be considered and data from floral and faunal samples corrected in order to compare isotopic data from different years. Atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ has changed by about -1.50 ‰ from preindustrial values of -6.50 ‰ to -8.00 ‰ in 1990 A.D. (Jain et al., 1996; Lee et al., 2006; Long et al., 2005; Schell, 2001).

Table 2. a) atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ corrections of slope 1, from 1850 to 1950 A.D., b) atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ correction of slope 2 from 1950 to 2015 A.D., using model and data of Jain et al., (1996) and Bowling et al., (2013).

a)			b)		
Year	Correction	Author	Year	Correction	Author
1850	0.00	Jain et al., 1996	1950	0.500	Jain et al., 1996
1860	0.05	"	1955	0.625	"
1870	0.10	"	1960	0.750	"
1880	0.15	"	1965	0.875	"
1890	0.20	"	1970	1.000	"
1900	0.25	"	1975	1.125	"
1910	0.30	"	1980	1.250	"
1920	0.35	"	1985	1.375	"
1930	0.40	"	1990	1.500	"
1940	0.45	"	1995	1.625	Bowling et al., 2013
1950	0.50	"	2000	1.750	"
			2005	1.875	"
			2010	2.000	"
			2013	2.1235	"

To correct the data, we used the model of Jain et al. (1996), where the calculated atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ trend (based on a model that reproduces the CO_2 concentration record) agrees well with data observed in ice core and tree-ring $\delta^{13}\text{C}$ records (Francey et al., 1999). The data used by Jain et al. (1996) only extends to 1990 A.D., and we have specimens which were collected in 2011, so we completed the chart using the data and equations of Bowling et al. (2013) that extend to 2013, which have similar slopes to that used by Jain et al. (1996). Numerical results of both slopes are summarized in Table 2 and Fig. 3.

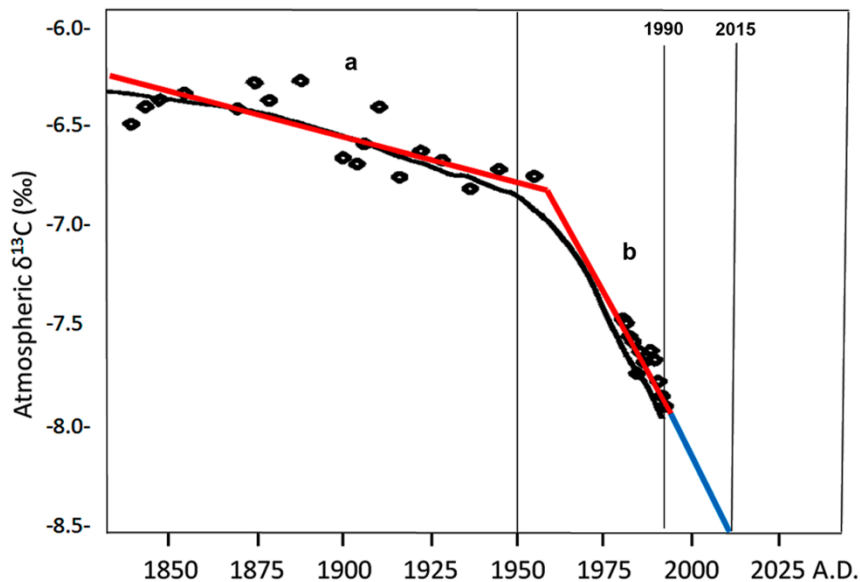


Figure 3. Slopes used to correct by Suess Effect: a) atmospheric $\delta^{13}\text{C}$ corrections of the first slope, from 1850 to 1950 A.D., b) $\delta^{13}\text{C}$ correction of slope 2 from 1950 to 2015, using model and data of Jain et al. (1996) and Bowling et al. (2013) in blue.

Considering that *Mazama* has been described as concentrate selector herbivore, opportunistic with reference to species and specialist in terms of consumed parts, fruits, buds, flowers or leaves (Hoffman and Steward, 1972; Putman, 1988), all woody and shrubby endemic flora of Uruguay was taken into consideration followed Haretche et al. (2012). As the plants gathering dates are not all available, based on the collection and publication times of most of the others studied, five year is the usual time before publication (Table 3). Isotopic flora data were taken from different authors (see Table 3) and were corrected by the Suess Effect in order to be comparable with the *Mazama* results.

Mazama $\delta^{13}\text{C}$ data were also corrected by the Suess Effect, because the collection of specimens was accomplished between 1924 and 2011 A.D., period of time where this effect is more pronounced (Jain et al., 1996; Daansgard, 1964).

Since we did not know the exact dates of birth of specimens and considering that *Mazama gouazoubira* live between 7 and 12 years (Huffman, 2004) and *Mazama americana* between 7 and 13 years (Huffman, 2004; Kosel, 2013), we selected specimens based on dental wearing and other traits, with assumed ages near 10 years at the moment of death (Table 4, Fig 4).

The $\delta^{18}\text{O}$ of rainwater in Uruguay has a value of -5.50 ‰ (International Atomic Energy Agency, IAEA). A level of $\delta^{18}\text{O}$ obtained from tooth enamel samples more enriched than the $\delta^{18}\text{O}$ in rainwater indicates that plants consumed were exposed to sun, wind and water stress. The more enriched the $\delta^{18}\text{O}$, the more exposed the plants were, and vice versa, the more depleted the $\delta^{18}\text{O}$ the more covered they were. Frugivory also depletes $\delta^{18}\text{O}$, because fleshy fruits have high water content (Bocherens and Drucker, 2013, Nelson, 2010).

4.2.3. Quantitative procedures

Quantitative analyses were performed with Excel (2019), and a Bayesian mixing model approach was applied in R (Parnell et al., 2010) with SIAR and SIBER packages (2019). <http://www.r-project.org/>. The use of stable isotope mixing models, to convert isotopic data in resource proportion estimates provides useful

ecological information, that can be directly compared to traditional types of data (Newsome et al., 2012).

The isotopic results for *M. gouazoubira* of Uruguay were grouped according to the eco-zones in which they were found (Fig. 2). Isotopic data were averaged in order to test if the conditions of geomorphological units, characterized by environmental and biological variables could influence dietary preferences.

5. Results

The isotopic result of $\delta^{13}\text{C}$ in plants and animals were corrected by Suess Effect, which showed two different slopes, the first from 1850 to 1950 and the second from 1950 to 2013 (Fig. 3). This behavior in the data is due to the differential increase of anthropogenic CO_2 in the atmosphere and the isotopic variation associated with it (Jain et al., 1996; Bowling et al., 2013). Numerical results of both slopes are summarized in Table 2

After Suess Effect correction, the woody and shrub flora of Uruguay at the family level yields a mean $\delta^{13}\text{C}$ value of -27.1 ‰ (Table 3); this value is taken as the baseline for isotopic dietary inferences.

Table 3. The isotopic values of woody and shrub endemic flora of Uruguay (Haretche et al., 2012), give a $\delta^{13}\text{C}$ mean of -27.1 ‰, after Suess Effect correction. * = date obtained from publication. Code of life forms: s = shrub; t = tree; s/t = shrub or tree; s- fern = shrub fern; t- fern = tree fern (Haretche et al., 2012).

Family / Species	Lifeform	Author	Collection Date	$\delta^{13}\text{C}$			Suess Effect correction	
				Min	Max	Mean	Correction	$\delta^{13}\text{C}$ Suess
ACANTHACEAE	S	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-29,09	1,300	-27,79
ADOXACEAE	s/t	Whitaker 2010	2005	-	-	-26,20	1,875	-24,33
ANACARDIACEAE	s/t	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-	-	-32,20	1,700	-30,50
ANNONACEAE	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-29,59	1,300	-28,29
APOCYNACEAE	T	Magnusson et al 1999	1996*	-	-	-31,70	1,650	-30,05
AQUIFOLIACEAE	T	Retuerto et al., 2000	1997*	-22,70	-18,40	-20,55	1,675	-18,88
ARECACEAE	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-27,74	1,300	-26,44
ASTERACEAE	s/t	Boutton et al., 1998	1991*	-28,00	-32,00	-30,00	1,525	-28,47
BERBERIDACEAE	S	Spark et al., 2013	2008	-27,70	-24,60	-26,15	1,950	-24,20
BIGNONIACEAE	T	Ehleringer & Field, 1987	1982	-28,90	-33,10	-31,00	1,300	-29,70
BLECHNACEAE	s-fern	Najera-Hilman et al., 2010	2006*	-	-	-33,76	1,900	-31,86
BORAGINACEAE	s/t	Li et al., 2006	2003*	-25,90	-28,90	-27,40	1,825	-25,58
CACTACEAE	S	Boutton et al., 1998	1991*	-15,80	-15,40	-15,60	1,525	-14,08
CANNABACEAE	s/t	Boutton et al., 1998	1991*	-	-	-26,80	1,525	-25,28
CARDIOPTERIDACEAE	s/t	Lins et al., 2016	2011	-33,90	-30,50	-32,20	2,025	-30,18
CARICACEAE	T	Holtum & Winter 2005	1994*	-27,50	-25,90	-26,70	1,600	-25,10
CELASTRACEAE	s/t	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-30,00	-29,90	-29,95	1,700	-28,25
COMBRETACEAE	s/t	Cerling & Harris 1999	1997*	-	-	-25,90	1,675	-24,23
CYATHEACEAE	t-fern	Najera-Hilman et al., 2010	2006*	-	-	-32,94	1,900	-31,04
DICKSONIACEAE	t-fern	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-29,71	1,300	-28,41
EBENACEAE	T	Boutton et al., 1998	1991*	-	-	-25,60	1,525	-24,08
EPHEDRACEAE	S	Jian et al., 2012	2007	-26,80	-25,17	-25,98	1,925	-24,06
ERICACEAE	s/t	Smith & Epstein, 1971	1966	-	-	-28,70	0,900	-27,80
ERYTHROXYLACEAE	S	Mooney et al., 1989	1984	-	-	-27,00	1,350	-25,65
ESCALLONIACEAE	s/t	Goedhart & Pataki 2011	2009*	-	-	-28,20	1,975	-26,23
EUPHORBIACEAE	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-34,4	-26,74	-30,06	1,300	-28,76
FABACEAE	s/t	Leffler & Enquist, 2002	1995*	-29,00	-31,10	-30,05	1,625	-28,42
LAMIACEAE	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-29,35	1,300	-28,05
LAURACEAE	T	Ehleringer & Field, 1987	1982	-34,86	-29,10	-31,97	1,300	-30,67
LOGANIACEAE	T	Codron et al., 2005	2002*	-	-	-28,70	1,800	-26,90
LORANTHACEAE	S	Ehleringer & Field, 1987	1982	-30,80	-29,80	-30,30	1,300	-29,00
LYTHRACEAE	S	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-	-	-20,00	1,700	-18,30

<i>MALPIGHIACEAE</i>	S	Leffler & Enquist 2002	1995*	-	-	-30,00	1,625	-28,38
<i>MALVACEAE</i>	S	Cerling & Harris 1999	1997*	-	-	-28,10	1,675	-26,43
<i>MELASTOMATACEAE</i>	s/t	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-30,90	-29,40	-30,30	1,700	-28,60
<i>MELIACEAE</i>	T	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-31,10	-29,20	-30,15	1,700	-28,45
<i>MORACEAE</i>	T	Leffler & Enquist, 2002	1995*	-30,50	-31,10	-30,80	1,625	-29,18
<i>MYRTACEAE</i>	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-27,40	-30,80	-29,10	1,300	-27,80
<i>PHYLLANTHACEAE</i>	S	Basu et al., 2015	2010		-	-30,80	2,000	-28,80
<i>PHYTOLACCACEAE</i>	T	X						
<i>PICRAMNIACEAE</i>	T	X						
<i>POACEAE C₃</i>	S	Tieszen 1991	1996	-	-	-30,70	1,650	-29,05
<i>POLYGONACEAE</i>	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-29,77	1,300	-29,47
<i>PRIMULACEAE</i>	T	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-30,93	1,300	-29,63
<i>QUILLAJACEAE</i>	T	X						
<i>RHAMNACEAE</i>	s/t	Cerling & Harris 1999	1997*	-28,80	-26,00	-27,40	1,675	-25,73
<i>ROSACEAE</i>	s/t	Ehleringer & Field, 1987	1982	-30,23	-27,14	-28,69	1,300	-27,39
<i>RUBIACEAE</i>	s/t	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-32,70	-28,90	-30,80	1,700	-29,10
<i>RUTACEAE</i>	T	Leffler & Enquist 2002	1995*	-29,50	-27,70	-28,60	1,625	-26,98
<i>SALICACEAE</i>	s/t	Li et al., 2006	2003*	-	-	-28,00	1,825	-26,18
<i>SANTALACEAE</i>	T	X						
<i>SAPINDACEAE</i>	s/t	Magnusson et al 1999	1996*	-	-	-31,00	1,650	-29,35
<i>SAPOTACEAE</i>	T	Leffler & Enquist 2002	1995*	-28,60	-31,10	-29,85	1,625	-28,23
<i>SCROPHULARIACEAE</i>	S	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-30,32	1,300	-29,02
<i>SIMAROUBACEAE</i>	s/t	Bonal & Montpied, 2000	1998*	-	-	-31,16	1,700	-29,46
<i>SOLANACEAE</i>	s/t	Spark et al., 2013	2008	-28,30	-24,40	-26,35	1,950	-24,40
<i>STYRACACEAE</i>	s/t	X						
<i>SYMPLOCACEAE</i>	T	X						
<i>THYMELAEACEAE</i>	S	Li et al., 2006	2003*	-26,90	-26,80	-26,85	1,825	-25,03
<i>VERBENACEAE</i>	S	Ehleringer & Field, 1987	1982	-	-	-30,00	1,300	-28,70
<i>ZYGOPHYLLACEAE</i>	s/t	kalapos et al., 1997	1992	-	-	-25,80	1,550	-24,25
Mean								-27,10

The theoretical value of $\delta^{13}\text{C}$ for a browser with a 100 % of C_3 foodstuff in the diet, would the average $\delta^{13}\text{C}$ of the Uruguayan flora of C_3 plants (-27.1 ‰) less the enrichment of $+ 14.1 \pm 0.5 \text{ ‰}$ for animals of >5 kg, proposed by Cerling and Harris (1999). ($27.1 \text{ ‰} + (14.1 \pm 0.5 \text{ ‰}) = -13.0 \pm 0.5 \text{ ‰}$).

If the isotopic data of the *Mazama* specimens are analyzed, it is observed that the $\delta^{13}\text{C}$ values in recent years are more impoverished, which would indicate a behavioral change with a tendency to browse in areas with a greater canopy effect (Table 4, Fig 4A), but after correction by Suess Effect, the $\delta^{13}\text{C}$ values are less impoverished and disperse (Fig. 4B).

It is important to take into consideration that values of $\delta^{13}\text{C}$ lower than $-13.0 \pm 0.5 \text{ ‰}$, are due to the canopy effect. The more depleted, the stronger the canopy effect is.

M. gouazoubira collected in the Gondwanic Sedimentary Basin (GSB), northern Uruguay, exhibited a $\delta^{13}\text{C}$ between -15.47 and -13.38 ‰ (Table 4), with a mean of -14.17 ‰ (SD (1σ) = 0.82), indicating a moderate canopy effect, and showing that *M. gouazoubira* is a browser that feeds on C_3 foodstuff in closed forest (Table 5). The $\delta^{18}\text{O}$ ranged between -6.30 and -4.33 ‰ with a mean of -5.01 ‰ (SD (1σ) = 0.88), reflecting a high dependence on frugivory.

Table 4. Suess Effect correction of *M. gouazoubira* of Uruguay, *M. americana*, *M. nana* and *M. gouazoubira* of Argentina, taking into account the calculated date of birth for the correction. SIL ID = GNS Laboratory ID; GSB = Gondwanic Sedimentary Basin; ES = Eastern Sierras; MLB = Merin Lagoon Basin; UY = Uruguay; AR = Argentina; SE southeast; NE = northeast; N = North; C = Centre; NW = northwest; D/P = Ecozone or Province.

SIL ID	Collection	Species	Date of Birth	$\delta^{13}\text{C}$	Correction	$\delta^{13}\text{C}$ Suess	E/P	Country
C-1304150	MNHN 1383	<i>M. gouazoubira</i>	1.947	-14,63	0,49	-14,15	GSB	UY (N)
C-1304144	MNHN 6434	<i>M. gouazoubira</i>	1.993	-17,04	1,58	-15,47	GSB	UY (N)
C-1304145	ZVCM 1330	<i>M. gouazoubira</i>	1.944	-13,85	0,47	-13,38	GSB	UY (N)
C-1304151	ZVCM 1769	<i>M. gouazoubira</i>	1.985	-15,68	1,38	-14,31	GSB	UY (N)
C-1304146	ZVCM 5035	<i>M. gouazoubira</i>	1.995	-15,18	1,63	-13,56	GSB	UY (N)
C-1400212	MNHN 3067	<i>M. gouazoubira</i>	1.975	-15,26	1,13	-14,14	ES	UY (SE)
C-1500167	MNHN 6265	<i>M. gouazoubira</i>	1.994	-16,11	1,60	-14,51	ES	UY (SE)
C-1500156	MNHN 6266	<i>M. gouazoubira</i>	1.994	-17,64	1,60	-16,04	ES	UY (SE)
C-1400198	MNHN 895	<i>M. gouazoubira</i>	1.949	-15,23	0,50	-14,74	ES	UY (SE)
C-1400197	ZVCM 50	<i>M. gouazoubira</i>	1.943	-16,62	0,47	-16,16	MLB	UY (SE)
C-1400196	ZVCM 5546	<i>M. gouazoubira</i>	1.990	-16,84	1,50	-15,84	MLB	UY (SE)
C-1500150	MACN 13563	<i>M. gouazoubira</i>	1949	-13,04	0,50	-12,55	Córdoba	AR (C)
C-1500149	MACN 24-176	<i>M. gouazoubira</i>	1914	-12,23	0,32	-11,91	Chaco	AR (N)
C-1500152	MACN 47-205	<i>M. gouazoubira</i>	1937	-15,41	0,44	-14,98	Salta	AR(NW)
C-1500158	MACN 26-111	<i>M. nana</i>	1916	-14,11	0,33	-13,78	Misiones	AR (NE)
C-1500155	MACN 24689	<i>M. nana</i>	1970	-15,53	1,00	-14,53	Misiones	AR (NE)
C-1500157	MACN 25-767	<i>M. americana</i>	2001	-15,77	2,03	-13,75	Misiones	AR (NE)
C-1500153	MACN 48-293	<i>M. americana</i>	1938	-12,17	0,44	-11,73	Misiones	AR (NE)
C-1500154	MACN 5032	<i>M. americana</i>	1940	-13,59	0,45	-13,14	Misiones	AR (NE)

In the Merin Lagoon Basin (MLB) and Eastern Sierras (ES), the $\delta^{13}\text{C}$ of *M. gouazoubira* is lower than in GSB and the lowest in the whole set of samples, between -16.16 and -14.14 ‰, averaging -15.24 ‰ (SD = 0.88), showing a greater canopy effect than in GSB (Table 5). The $\delta^{18}\text{O}$ ranged between -5.51 and -3.09 ‰ with a mean = -4.37 ‰ (SD = 0.80), also showing high dependence on frugivory.

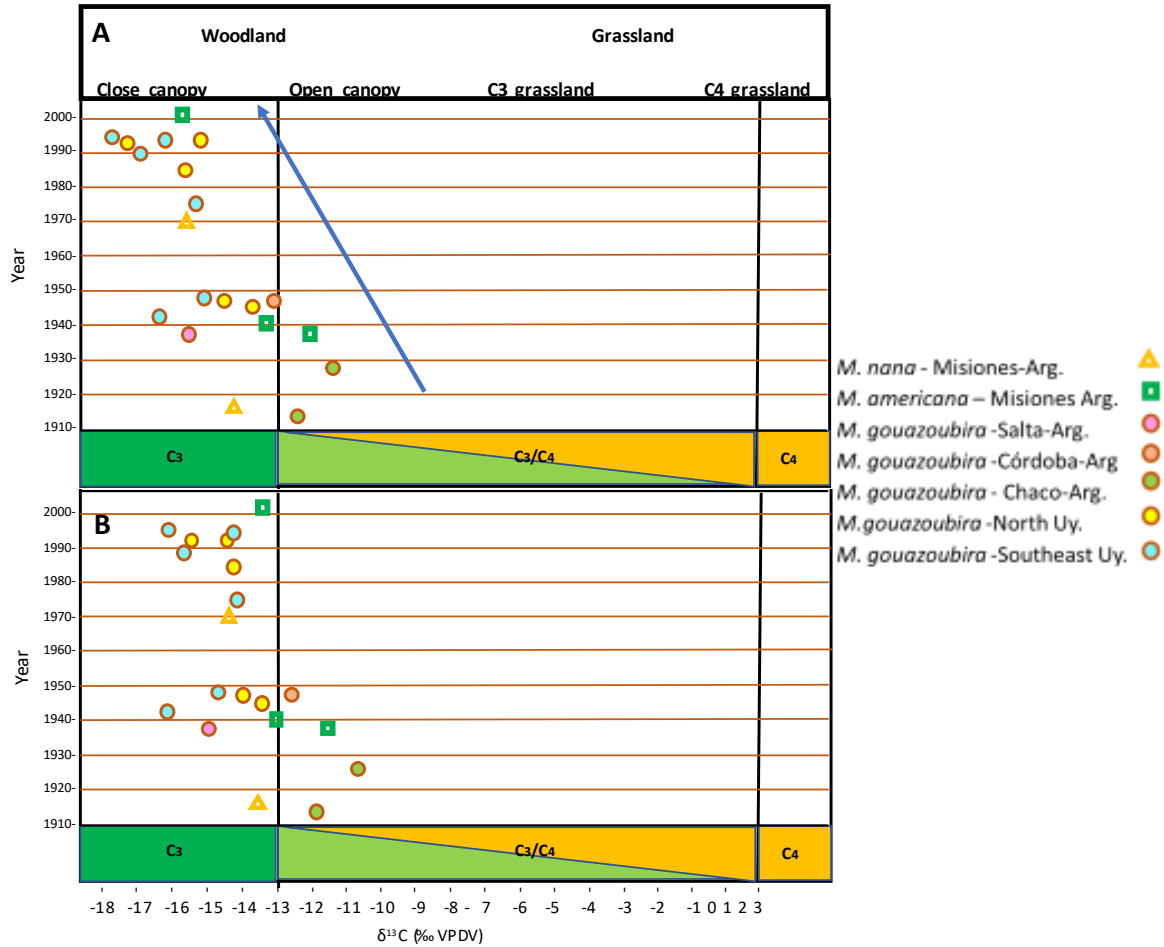


Figure 4. Biplot year vs. $\delta^{13}\text{C}$. Correction for Suess effect taking into consideration the estimated date of birth (10 years before to the collection of the specimens). a) original values, the arrow indicates a skew towards more negative values because of Suess Effect in specimens closest to the present. b) after correction, $\delta^{13}\text{C}$ data of the different species present a narrower range of values.

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of *M. gouazoubira* from Córdoba Province, Argentina (Table 4), were higher, with $\delta^{13}\text{C} = -12.55 \text{ ‰}$ and $\delta^{18}\text{O} = +0.74 \text{ ‰}$, showing no canopy effect and the highest $\delta^{18}\text{O}$ value in the whole set of samples.

For this specimen, frugivory did not seem to be an important part of the diet. The data from the specimen of Chaco Province had $\delta^{13}\text{C} = -11.91 \text{ ‰}$ and $\delta^{18}\text{O}$ is -5.31 ‰ do not present canopy effect either, but a depleted $\delta^{18}\text{O}$. While the specimen from Salta Province, showed a different isotopic composition, with $\delta^{13}\text{C}$ of -14.98 ‰ , it is relatively depleted, with a canopy effect similar to the specimens from Uruguay, but with a higher $\delta^{18}\text{O}$ of -2.40 ‰ .

Table 5. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ isotopic: min = minimum, Max = maximum, mean and SD = Standard Deviation, Gondwanic Sedimentary Basin = GSB, ES = Eastern Sierras, MLB = Merin Lagoon Basin, regarding localities of Uruguay and Argentina.

Country	Zone	Province	Species	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$				$\delta^{18}\text{O} \text{ ‰}$			
				Min	Max	Mean	SD (1s)	Min	Max	Mean	SD (1s)
Uruguay	GSB	North	<i>M. gouazoubira</i>	-15,47	-13,38	-14,17	0,82	-6,30	-4,33	-5,01	0,88
Uruguay	ES and MLB	Southeast	<i>M. gouazoubira</i>	-16,16	-14,14	-15,24	0,88	-5,51	-3,09	-4,37	0,80
Argentina	Centre	Córdoba	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	-12,55	-	-	-	0,74	-
Argentina	North	Chaco	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	11,91	-	-	-	-5,31	-
Argentina	North	Salta	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	-14,98	-	-	-	-2,40	-
Argentina	Northeast	Misiones	<i>M. americana</i>	-13,75	-11,73	-12,87	1,03	-6,61	-4,88	-5,59	0,91
Argentina	Northeast	Misiones	<i>M. nana</i>	-14,53	-13,78	-14,16	0,53	-6,90	-3,41	-5,16	2,47

M. americana from Misiones Province yielded a $\delta^{13}\text{C}$ ranging from -13.75 to -11.73 ‰ , with a mean value of -12.87 ‰ (SD = 1.03), it does not present almost canopy effect and has the lowest $\delta^{18}\text{O}$, ranging from -6.61 to -4.88 ‰ and averaging -5.59 ‰ (SD = 0.91), indicating that fruits were a very important part of the diet.

M. nana, also from Misiones Province, showed isotopic values similar to those *M. gouazoubira* of the GSB, with a $\delta^{13}\text{C}$ between -14.53 and -13.78 ‰, averaging -14.16 ‰ (SD = 0.53). The $\delta^{18}\text{O}$ ranged between -6.90 and -3.41‰ (mean = -5.16 ‰ (SD = 2.47)).

Table 6. Mixing model for two prey. Using the mean $\delta^{13}\text{C}$ of the flora (-27.1 ‰), in this model, -13 ‰ corresponds to mazamas with 100 % of the C_3 browsing diet and +1 ‰ corresponds to 100 % of the C_4 grazing diet. Due to the fact that most of the mazamas present some degree of canopy effect, some values greater than 100% are obtained. The greater the percentage, the greater the canopy effect. Data are grouped by localities of Uruguay and Argentina. Gondwanic Sedimentary Basin = GSB; Eastern Sierras = ES; Merin Lagoon Basin = MLB; Ecozone or Province = E/D;

Country	Zone	E/P	Species	Mixing model - C_3 %		
				min	Max	Mean
Uruguay	GSB	North	<i>M. gouazoubira</i>	103	118	108
Uruguay	ES & MLB	Southeast	<i>M. gouazoubira</i>	108	123	116
Argentina	Centre	Córdoba	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	97
Argentina	North	Chaco	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	92
Argentina	North	Salta	<i>M. gouazoubira</i>	-	-	111
Argentina	northeast	Misiones	<i>M. americana</i>	91	105	99
Argentina	northeast	Misiones	<i>M. nana</i>	106	111	108

6. Discussion

6.1. Interpretations of diets of Uruguayan *Mazama*.

Ok Considering that a $\delta^{13}\text{C} = -13.0 \pm 0.5 \text{ ‰}$ corresponds to a 100 % C_3 browsing diet and a $\delta^{13}\text{C} = +1 \pm 0.5 \text{ ‰}$ with a 100 % grazer of C_4 plants (vide supra), *M. gouazoubira* from the GSB, has an averaged $\delta^{13}\text{C} = -14.17 \text{ ‰}$, the group feeds mainly on different parts of surrounding shrubs and trees, including leaves and twigs, growing with insufficient sunlight or in the shade indicating a moderate canopy effect. The relatively depleted $\delta^{18}\text{O} = -5.01 \text{ ‰}$ (Table 5) indicates that, in addition to a 100 % C_3 browsing diet, fruits could constitute an important percentage of the diet. This is because, fruits have higher water content and lower values of $\delta^{18}\text{O}$ than do leaves. Furthermore, leaves exhibit the perspiration effect, which enriches $\delta^{18}\text{O}$ (Nelson, 2013; Bocherens and Drucker, 2013).

The *M. gouazoubira* group of the MLB and ES, had the lowest $\delta^{13}\text{C}$ of the whole set, with a mean of -15.24 ‰ . In this case, the data suggest that the diet was a 100 % C_3 plants, located at ground level and tree parts (such as leaves, twigs, etc.), growing with deficient sunlight and showing a more pronounced canopy effect than for the GSB group and for all the *Mazama* of Argentina.

The interpretation of the slightly higher values of $\delta^{18}\text{O}$ (-4.37 ‰), indicate a dependence of frugivory and a certain addition of flowers, buds and leaves that grow

with some degree of sunlight. This inference would explain both the relatively depleted $\delta^{13}\text{C}$ and the enriched $\delta^{18}\text{O}$.

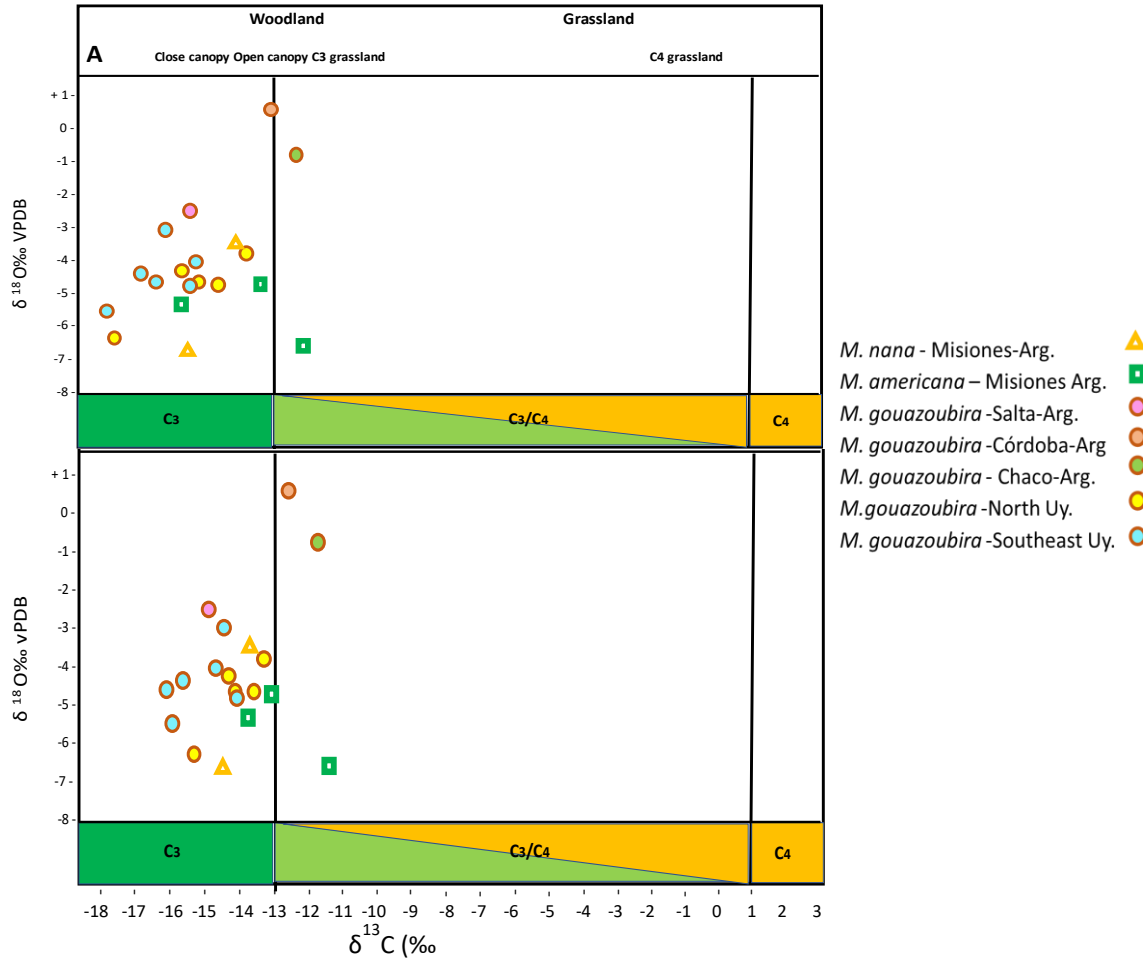


Figure 4. Biplot $\delta^{13}\text{C}$ vs. $\delta^{18}\text{O}$. a) isotopic values without correcting by Suess Effect. b) after correction, $\delta^{13}\text{C}$ data of the different species present a narrower range of values.

The isotopic data lead us to consider that, regardless of the geographic location of the *M. gouazoubira* in Uruguay (Fig. 5), whether from the GSB (yellow circles) or MLB and ES (light blue circles) eco-zones, both groups have browser diets with a more or less pronounced canopy effect, and are in a similar range of $\delta^{13}\text{C}$.

It should be noted that the interpretations based on isotopic data are consistent with diet information provided by independent methods and authors for *M. gouazoubira* (Richard and Julia, 1995; Julia, 2002; Black Decima and Vogliotti, 2016; Medeiros 2013).

6.2. Comparisons with Argentinean *Mazama*.

As a way of verifying whether the inferences made for Uruguay are relevant, *M. gouazoubira*, *M. americana* and *M. nana* from different biogeographic contexts of Argentina were also analyzed.

The specimen of *M. gouazoubira* MACN 13563 from the Department of Sobremonte, Province of Córdoba, had a $\delta^{13}\text{C}$ of -12.55 ‰ along with the highest $\delta^{18}\text{O}$ value (+0.74 ‰) of the entire set of samples. These two proxies suggest that *M. gouazoubira* had a browsing diet in which C_3 plants were 97 % and fed mostly on leaves, twigs and shoots in relatively open areas, experiencing more recycling conditions of CO_2 than in the closed forests (Fig. 5). This interpretation is consistent

with the xerophilic forest and savanna found in the Dry Chaco. The high $\delta^{18}\text{O}$ values would suggest that tree and shrub frugivory is not an important part of the diet.

The *M. gouazoubira* (MACN 24176) from the Chaco Province featured the highest $\delta^{13}\text{C}$ of -11.91 ‰ (92 % of C_3) among the set of samples, with a browsing diet similar to that of the specimen from Córdoba Province, consisting of leaves, shoots and twigs from the forest edges or areas with open canopy (Fig. 5). Contrary to results for MACN 13563 from Córdoba, the low $\delta^{18}\text{O}$ of - 5.31 ‰ indicates that maybe tree fruit consumption had a prominent place in its diet (Fig. 6).

M. gouazoubira (MACN 47205) comes from an ecotone of Yungas and transitional forest in Salta Province. The $\delta^{13}\text{C}$ = -14.98 ‰ was one of the lowest (Table 6), indicating a moderate canopy effect with little CO_2 replacement and low solar incidence, as in the Uruguayan specimens. The $\delta^{18}\text{O}$ = -2.40 ‰ was relatively high, and maybe tree frugivory is not so important in the diet (Fig. 6). These results are consistent with the environment of Yungas and forest in which we infer MACN 47205 fed.

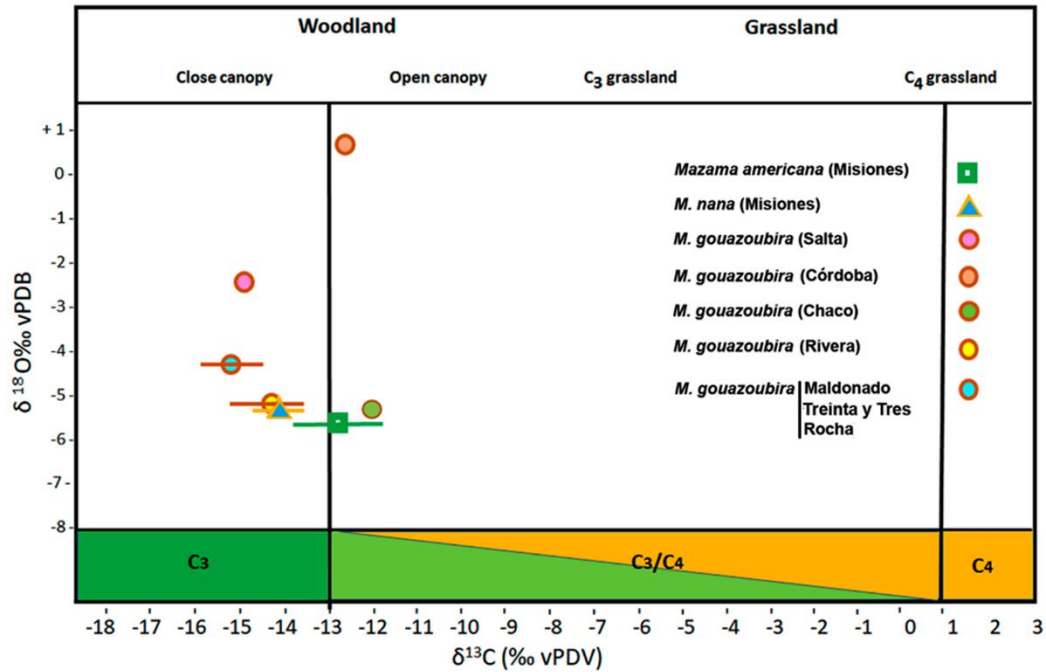


Figure 6. Mean values of *Mazama* regarding the sites where they were found. All the species of *Mazama* (Uruguayan and Argentinian), are browsers with a greater or lesser canopy effect. Both populations of *M. gouazoubira* from Uruguay (light blue and yellow circles) have similar values of $\delta^{13}\text{C}$, in which frugivory is an important part of the diet. *M. nana* (light blue triangle) has a diet similar to *M. gouazoubira* from GSB (yellow circle) in Uruguay.

The *M. americana* and *M. nana* specimens, both derive from Misiones Province, in the Paranaense Biogeographic Province.

Based on independent sources, it is interpreted that *M. americana* is predominantly frugivorous (Duarte and Vogliotti, 2016). If this resource is scarce, it consumes the tender parts of plant (young leaves, tender stems and shoots), mainly graminoids (Duarte and Vogliotti, 2016; Medeiros, 2013), in addition to occasionally foraging in pastures and eating vines and seeds in forest (Branan et al., 1985; Bodmer, 1997). The average $\delta^{13}\text{C}$ value is -12.87 ‰ (99 % of C₃) with a range of -

13.75 to -11.73 ‰ (Table 5, Fig. 5), is relatively high, considering that *M. americana* lives in forest and a relative impoverishment would be expected. Level of $\delta^{13}\text{C}$ indicates browser diet that feed on plants that grew with some degree of sunlight and water stress. The average value of $\delta^{18}\text{O} = -5.59$ ‰, which is the lowest (Fig. 6), shows that tree frugivory would be one of the most important parts of the diet as previously reported (vide supra).

The results of these two isotopes can be explained bearing in mind that, in addition to fruit the deer also feed on young parts of grasses (C_4) when in the forest, and *M. americana* have also been reported to forage in crop fields near forests (Nowak and Walker, 1999). This behavior would be consistent with the inferred diet based on the isotopic data.

M. nana is a species hardly known in its general biological aspects and more particularly with reference to its diet. It was assumed that it has the same type of food behavior as observed for the other species of *Mazama* (Duarte et al., 2015), but this is practically unknown at present.

Isotopic data obtained from *M. nana* were almost identical to those obtained from the specimens of northern Uruguay (Table 5; Fig. 6), with values of $\delta^{13}\text{C} = -14.16$ ‰ and $\delta^{18}\text{O} = -5.16$ ‰. These results would indicate that it is a browser that feeds on plants that are fundamentally flush with the floor, with a moderate canopy effect. This species exhibited a low $\delta^{18}\text{O}$, which indicates that, in addition to eating plants that receive little sunlight, frugivory

and consumption of flowers or other reproductive parts of trees and shrubs could constitute an important portion of the diet.

By and large, a concentrate selector herbivore, opportunistic with reference to species and specialist in terms of consumed parts, such as fruits, buds, flowers or leaves (Hoffman and Steward, 1972; Putman, 1988), corresponds well with our isotopic results (Table 6). Being a concentrate selector would explain why *Mazama*, independently of the biogeographic provinces in which they are found, show similar $\delta^{13}\text{C}$ results (Fig. 6), with only small differences. These differences depend on the forest cover, dense or semi open, where they feed. The $\delta^{18}\text{O}$ data can be variable depending on biogeographic area and could be influenced by the availability of tree fruits.

As mentioned above, *Mazama* has been recorded from fossiliferous and archaeological levels of the late Pleistocene and Holocene, at different sites in South America (Guérin and Fauret, 2009; Ubilla et al., 2016; Valli, 2018). Although the samples used in this study do not cover the entire area of distribution of *Mazama* in South America, and in some cases samples sizes are low, the specimens analyzed come from diverse biogeographic regions of the Neotropics, providing useful results. Isotopic results, as data for potential use with paleontological and archaeological samples of *Mazama*, are shown to be reliable and exhibit consistency of dietary information based on other methods and environmental reconstruction.

This work is the first attempt to provide an interpretation of feeding strategies based on stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) in Uruguayan populations of *Mazama gouazoubira* and comparable Argentinian specimens of *M. gouazoubira*, *M. americana* and *M. nana*.

References

- Barbanti Duarte J, González S, Maldonado S. 2008. The surprising evolutionary history of South American deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49:17-22.
- Barbanti J, Gonzalez S. 2010. Neotropical Cervidology. *Biology and Medicine of Latin American Deer*. Funep / IUCN.
- Basu S, Agrawal S, Sanyal P, Mahato P, Kumar S, Sarkar A. 2015. Carbon isotopic ratios of modern C₃– C₄ plants from the Gangetic Plain, India and its implications to paleovegetational reconstruction. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 440, 22–32.
- Benvenuti-Ferreira G, Coelho GC. 2009. Floristics and structure of the tree component in a Seasonal Forest remnant, Chiapetta, Rio Grande do Sul State, Brazil. *Revista Brasileira de Biociências* 7(4):344-353.
- Black-Decima PA, Vogliotti A. 2016. *Mazama gouazoubira*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T29620A22154584.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T29620A22154584.en>.
Downloaded on 28 August 2020.
- Bocherens H, Drucker DG. 2013. Terrestrial teeth and bones. In: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1. Elsevier, Amsterdam, pp. 304e314.

- Bodmer R. 1997. Ecologia e conservacao dos veados mateiro e catingueirona Amazonia. In: J. M. B. Duarte (ed.), *Biologia e conservacao de cervideos sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama*, pp. 69-77. FUNEP, Jaboticabal.
- Bonal D, Sabatier D, Montpied P, Tremeaux D, Guehl JM. 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124:454–468
- Boutton TW, Archer SR, Midwood AJ, Zitzer S., Bol R. 1998. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. *Geoderma* 82, 5–41.
- Bowling DR, Ballantyne AP, Miller JB, Burn S, Conway TJ, Menzer O, Stephens BB, Vaughn BH. 2014. Ecological processes dominate the ^{13}C land disequilibrium in a Rocky Mountain subalpine forest. *Glob. Biogeochem. Cycles* 28, 352–370.
- Brazeiro A, Achkar M, Canavero A. (2008): Prioridades Geográficas para la Conservación de la Biodiversidad Terrestre de Uruguay. Resumen Ejecutivo PDT 32-26. 48pp.
- Brazeiro A, Panario D, Soutullo A, Gutiérrez O, Segura A, Mai P. 2012. Clasificación y delimitación de las eco-regiones del Uruguay. Informe

- Técnico. Convenio MGAP/PPR – Facultad de Ciencias/Vida Silvestre/ Sociedad Zoológica del Uruguay/CIEDUR. 40p. (Montevideo, Uruguay).
- Brazeiro A. 2015. Eco-Regiones de Uruguay: Biodiversidad, Presiones y Conservación. Aportes a la Estrategia Nacional de Biodiversidad. Facultad de Ciencias, CIEDUR, VS-Uruguay, SZU. Montevideo. 122p.
- Burkart R, Barbaro N, Sanchez R, Gómez D. 1999. Eco-regiones de la Argentina. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires. Argentina. 43 pp.
- Caballero M. 2001. Comparación de la dieta de la urina (*Mazama gouazoubira*) durante las épocas lluviosa y seca en la zona del Izozoz, Santa Cruz – Bolivia. Bachelor Thesis, Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno.
- Cartes J L. 1998. Distribución y uso de hábitat de la corzuela parda en los Llanos de La Rioja, Argentina. Master Thesis, Nacional University of Cordoba.
- Cerling TE, Harris JM. 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120 (3), 347–363.
- Cione A, Gasparini, E. Soibelzon, L. Soibelzon, E. Tonni. 2015. The Great American Biotic Interchange. A South American Perspective. 97 pp. Springer Briefs in Earth System Sciences.
- Codron J, Codron D, Lee-Thorp JA, Sponheimer M, Bond WJ, de Ruiter D, Grant R. 2005. Taxonomic, anatomical, and spatio-temporal variations in the stable carbon and nitrogen isotopic compositions of plants from an African savanna. *J. Archaeol. Sci.* 32, 1757e1772.

- Dansgaard W. 1964 Stable isotope in precipitation. *Tellus* 16:436–468.
- Del Puerto O. 1987. Vegetación del Uruguay. Facultad de Agronomía. Montevideo-Uruguay.
- Drucker DG, Bridault A, Hobson KA, Szuma E, Bocherens H. 2008. Can carbon13 in large herbivores reflect the canopy effect in temperate and boreal ecosystems? Evidence from modern and ancient ungulates. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 266, 69e82.
- Duarte JMB. 1996. Guia de identificação de cervídeos brasileiros. *FUNEP*, Jaboticabal:1-8.
- Duarte JMB, Vogliotti A, Cartes JL, Oliveira ML. 2015. *Mazama nana*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2015: e.T29621A22154379. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T29621A22154379.en>
- Duarte JMB and Vogliotti A. 2016. *Mazama americana*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2016: e.T29619A22154827. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T29619A22154827.endupras>
- Dupras TL, MW Tocheri. 2007 Reconstructing Infant Weaning Histories at Roman Period Kellis, Egypt Using Stable Isotope Analysis of Dentition. *American Journal of Physical Anthropology* 134: 63–74.
- Ehleringer JR, Lin ZF, Field CB, Kuo CY. 1987. Leaf carbon isotope ratios of plants from a subtropical monsoon forest. *Oecologia* 72:109-14 29.

- Estes JA, ML Riedman, MM Staedler, MT Tinker, BE Lyon. 2003. Individual variation in prey selection by sea otters: patterns, causes and implications. *Journal of Animal Ecology* 72:144–155.
- Gilbert C, Ropiquet A, Hassanin A. 2006. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40 (2006) 101–117.
- Goedhart CM, D E Pataki. 2012. Do arid species use less water than mesic species in an irrigated common garden? *Urban Ecosystems* **15**: 215– 232.
- Grela I. 2004: Geografía florística de las especies arbóreas de Uruguay: Propuesta para la delimitación de dendrofloras. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, PEDECIBA, Montevideo, Uruguay, 97pp
- Guérin C, M Fauret. 2009. The Cervidae (Mammalia, Artiodactyla) of the Upper Pleistocene/Lower Holocene deposits of the Serra do Capivara National Park Region (Piauí, Brazil). *Geobios* 42:169-195.
- Haretche F, Mai P, Brazeiro A. 2012. Woody flora of Uruguay: inventory and implication within the Pampean region. *Acta Bot. Bras.* 26(3): 537-552.
- Hassanin A, Delsuc F, Ropiquet A, Hammer C, van Vuuren B, Matthee C, Ruiz-Garcia M, Catzeflis F, Areskoug V, Nguyen T, Couloux A. 2012. Pattern and timing of diversification of Cetartiodactyla (Mammalia, Laurasiatheria), as revealed by a comprehensive analysis of mitochondrial genomes. *C. R. Biologies* 335 (2012) 32–50.

- Heckeberg N, D Erpenbeck, G Wörheide, G Rössner. 2016. Systematic relationships of five newly sequenced cervid species. PeerJ4:e2307; DOI10.7717/peerj.2307.
- Heckeberg N. 2020. The systematics of the Cervidae: a total evidence approach. PeerJ8:e8114 <https://doi.org/10.7717/peerj.8114>.
- Hillson S. 1986. Teeth. Cambridge: Cambridge Univ. Press; p. 376.
- Hofmann RR, Stewart DRM. 1972. Grazer or browser: a classification based on the stomach-structure and feeding habits of East African ruminants. Mammalia 36: 226–240
- Holtum JAM, Winter K. 2005. Carbon isotope composition of canopy leaves in a tropical forest in Panama throughout a seasonal cycle. Trees – Structure and Function 19, 545–551
- Huffman Brent. 2004. An Ultimate Ungulate Fact Sheet. “*Mazama americana*”. Retrieved on 20 October, 2004. Website last updated 22 March, 2004. http://www.ultimateungulate.com/Artiodactyla/Mazama_americana.html
- Illius AW, Gordon IJ, Elston DA, Milne JD. 1999. Diet selection in goats: a test of intake-rate maximization. Ecology 80, 1008–1018.
- Jain AK, Khesghi HS, Caldeira K, Hoffert MI, Wuebbles DJ. 1996. Evaluation of $\delta^{13}\text{C}$ of atmospheric carbon dioxide with a schematic carbon cycle model. *American Geophysical Union Fall Meeting, EOS Supplement* 75, 152-153.

- Jian-Ying Ma, Wei Sun, Xiao-Ning Liu, Fa-Hu Chen. 2012 Variation in the Stable Carbon and Nitrogen Isotope Composition of Plants and Soil along a Precipitation Gradient in Northern China. pLOS
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051894>
- Julia JP. 2002. Autoecología de la corzuela parda (*Mazama gouazoubira*, Fisher 1814) en el noroeste Argentina. PhD. Thesis, Universidad de Salamanca.
- Kalapos T, Baloghne-Nyakas C, Csontos P. 1997. Occurrence and ecological characteristics of C₄ dicot and Cyperacene species in the Hungarian flora. *Photosynthetica* 33: 227±240
- Keeling C, Piper S, Whorf T, Keeling R. 2011. Evolution of natural and anthropogenic fluxes of atmospheric CO₂ from 1957 to 2003. *Tellus* 63B, 1-22.
- Koch PL, Tuross N, Fogel ML. 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *Journal of Archaeological Sciences* 24(5), 417–429.
- Kossel, K. 2013. "*Mazama americana*", Animal Diversity Web. Accessed May 12, 2020 https://animaldiversity.org/accounts/Mazama_americana.
- Leffler A, Enquist B. 2002. Carbon isotope composition of tree leaves from Guanacaste, Costa Rica: comparison Across tropical forests and tree life history. *J. Trop. Ecol.* 18: 151–159.

- Li MC, Liu HY, Yi XF, Li LX., 2006. Characterisation of photosynthetic pathway of plant species growing in the eastern Tibetan Plateau using stable carbon isotope composition. *Photosynthetica* 44, 102–108.
- Lins SRM, Coletta LD, de Campos Ravagnani E. 2016. Stable carbon composition of vegetation and soils across an altitudinal range in the coastal Atlantic Forest of Brazil. *Trees* 30, 1315–1329 (2016).
<https://doi.org/10.1007/s00468-016-1368-7>
- Magnusson M, Carmozina de Araujo, Renato Cintra, Albertina P Lima, Luiz A. Martinelli, Tania M. Sanaiotti, Heraldo L Vasconcelos, Reynaldo L Victoria. 1999. Contributions of C₃ and C₄ plants to higher trophic levels in an Amazonian savanna. *Oecologia* 119
- Medeiros H. 2013. Feeding ecology of five neotropical ungulates: a critical review. *Oecología Australis* 17:459-473.
- Mené­gaz A, E Ortiz-Jaureguizar. 1995. Los Artiodáctilos. In M.T. Alberdi, G. Leone & E.P. Tonni (eds.): Evolución biológica y climática de la región pampeana durante los últimos cinco millones de años. Monografías Museo Nacional de Ciencias Naturales CSIC Madrid. 311-337.
- Merino M, R Vieira. 2010. Origin, systematics and morphological radiations. In J.M. Barbanti & S. González (eds): Neotropical Cervidology. Biology and Medicine of Latin American deer. 1: 2-11. Funep-IUCN.
- Mooney S, ASH Bullock, JR Ehleringer. 1989. Isotope ratios of plants of a tropical dry forest in Mexico. *Functional Ecology* 3:137-142

- Moreno DL. 1993. Ciervos autóctonos de la República Argentina. FVSA Bol. Técnico 17: 39 pp.
- Morosi, E., Ubilla, M., 2017. Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). Historical Biology 31,196-202.
- Morosi E., Ubilla M., 2019. Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). Quaternary Science Review. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>
- Najera-Hillman E, Alfaro AC, Breen BB, O'Shea S. 2009. Characterisation ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ isotopes) of the food webs in a New Zealand stream in the Waitakere Ranges, with emphasis on the trophic level of the endemic frog *Leiopelma hochstetteri*. New Zealand Journal of Zoology, 36, 165–176.
- Nelson SV. 2013 Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. Proc R Soc B 280: 20132324. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.2324>
- Newsome SD, Tinker MT, Monson DH, Oftedal OT, Ralls K, Staedler MM, Fogel ML, Estes JA. 2009. Using stable isotopes to investigate individual diet specialization in California sea otters (*Enhydra lutris nereis*). Ecology 90:961–974.

- Newsome SD, MT Clementz, PL Koch. 2010. Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Marine Mammal Science* 26:509–572.
- Newsome SD, Yeakel JD, Wheatley PV, Tinker MT. 2012. Tools for quantifying isotopic niche space and dietary variation at the individual and population level. *Journal of Mammalogy* 93:329–341.
- Nowak RM, Walker EP. 1999. Walker's Mammals of the World- 6th edition. The Johns Hopkins University Press. Baltimore; London. 6(2):1123-24.
- Peterson B, Fry B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematic* 18(1), 293–320.
- Putman R. 1988. The natural history of deer. Ithaca, Comstock. 191 p.
- R Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. SIAR and SIBER packages. 2019.<http://www.r-project.org>.
- Retuerto R, Lema BF, Roiloa SR, Obeso JR. 2000. Gender, light and water effects in carbon isotope discrimination, and growth rates in the dioecious tree *Ilex aquifolium*. *Funct. Ecol.* 14:529–37
- Richard E, Juliá JP. 1995. La corzuela parda. Serie Monográfica y Didáctica, Tucumán, 22:1-35.
- Richard E, Rada FF. 2006. Fruit preference analysis in the diet of the brown brocket deer *Mazama gouazoubira* Fischer (Mammalia, Cervidae), in a secondary

- Yungas environment (Tucumán – Argentina). *Ecología Aplicada* 5, 111–117.
- Solari S, Muñoz-Saba Y, Rodríguez-Mahecha JV, Defler R, Ramírez-Chaves H, F Trujillo. 2013. Riqueza, Endemismo Y Conservación De Los Mamíferos De Colombia. *Mastozoología Neotropical*, 20(2):301-365.
- Schell DM. 2001. Carbon isotope ratio variations in Bering Sea biota: The role of anthropogenic carbon dioxide. *Limnology and Oceanography* 46: 999–1000.
- Smith BN, Epstein S. 1971. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiol.* 47:380-84.
- Spark P, White C, Longstaffe F, Millaire JF, Vazquez V. 2013. Carbon and Nitrogen Isotopic Survey of Northern Peruvian Plants: Baselines for Paleodietary and Paleoecological Studies. *Plos.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053763>
- Stallings JR. 1984. Notes on feeding habits of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. *Biotropica* 16: 155-157.
- Tinker MT, G Bental, JA Estes. 2008. Food limitation leads to behavioral diversification and dietary specialization in sea otters. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:560–565.
- Torella S, Adámoli J. 2005. Situación ambiental de la ecorregión del “Chaco Seco”, en Brown, A.D.; Martínez Ortiz, U.; Acerbi, M.; Corchera, J. (Eds.) *Situación Ambiental Argentina 2005*, Argentina, Fundación Vida Silvestre, pp. 75-82.

- Ubilla M, A Corona, A Rinderknecht, D Perea, M Verde. 2016. Marine isotope Stage 3 (MIS 3) and continental beds of northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology and climate. In Gasparini, G., J. Rabassa, C. Deschamps & E. Tonni (eds): Marine Isotope stage 3 in southern South America, 60 ka B.P.-30 ka B.P. Springer, 183-205.
- Van der Merwe NJ, Medina E. 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53(5), 1091–1094.
- Webb SD. 2000. Evolutionary history of new world deer. In: Vrba, E.S., Shaller, G.B. (Eds.), *Antelopes, Deer, and Relatives*. Yale University Press, London, pp. 38–64.
- Weber M, González S. 2003. Latin American deer diversity and conservation: a review of status and distribution. *Ecoscience* 10(4): 443-454.
- Werner TK, TW Sherry. 1986. Behavioral feeding specialization in *Pinaroloxias ornata*, the “Darwin’s finch” of Cocos Island, Costa Rica. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 84: 5506–5510.
- Whitaker JM. "Diet Reconstruction of Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) Using Stable Isotopes". 2010. All Theses and Dissertations. 2328. <https://scholarsarchive.byu.edu/etd/2328>
- Wilson DE, Dee Ann M, Reeder DM. (editors). 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Johns Hopkins

University Press, 2,142 pp. (Available from Johns Hopkins University Press, 1-800-537-5487 or (410) 516-6900, or at <http://www.press.jhu.edu>).

Woodburne M. 2010. The Great American Biotic Interchange: dispersals, tectonic, climate, sea level and holding pens. *J Mammal Evolution* 17:245-264.

Wright LE, Schwarcz HP. 1998. Stable carbon and oxygen isotopes in human tooth enamel: identifying breast feeding and weaning in prehistory. *Am. J. Phys. Anthropol.* 106 (1): 1-18.

CAPÍTULO 5.

Inferencias dietarias en *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* mediante isotopía estable.

1. Introducción

Desde su entrada en América del Sur en el Plio-Pleistoceno medio, los cérvidos se extendieron rápidamente en el neotrópico, como lo prueba la presencia de varios géneros, tanto extintos como actuales (Cione et al. 2015; Menegaz y Ortiz Jaureguizar, 1995). Actualmente están adaptados a vivir en un amplio rango de ecosistemas, desde bosques densos a ambientes abiertos de sabana y pradera (Cabrera, 1943; González et al. 2002; Jackson 1987; Merino et al. 1997; Weber y González 2003).

Las diferentes estrategias de alimentación que existen entre los cérvidos pueden haber favorecido su diversificación, como resultado de una serie de factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Entre los factores intrínsecos, se encuentran la morfología dental, anatomía y fisiología digestiva, así como factores

comportamentales que maximizan la eficiencia de los recursos naturales con los que cuentan (Putman, 1988). Entre los factores extrínsecos se cuentan fundamentalmente la distribución espacial y temporal de la vegetación (Illius y Gordon, 1993).

El venado de campo u *Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758, es un cérvido de tamaño mediano, que pesa entre 20 y 40 kg., con una altura de 70-75 cm y que muestra una amplia variación en el tamaño corporal tanto entre individuos como entre poblaciones (González et al., 2003). “El color que prevalece es marrón rojizo o gris amarillento, con zonas blanquecinas alrededor de los ojos, dentro de las orejas, cuello y pecho, así como en el interior de los muslos y parte oculta de la cola” (Cabrera, 1943). Los juveniles tienen manchas blancas alineadas en el dorso hasta aproximadamente los tres meses de edad, luego de lo cual, estas van desapareciendo y el pelaje se torna similar al de los adultos. Solo los machos tienen astas con tres candiles, mientras que las hembras tienen una mancha blanca en el lugar de las astas (Rodrigues et al. 1999; Whitehead 1972).

Hasta el siglo XIX ocupaba un amplio rango de hábitats, incluyendo pastizales, pampas en la Argentina y la sabana brasileña (Cerrado) desde los 5° a los 41° S, siendo uno de los ungulados típicos de las praderas de Uruguay (González et al., 2016; Cabrera, 1943; Jackson, 1987; Merino et al., 1997; Weber y González, 2003). Luego, su población comenzó a disminuir drásticamente por diferentes causas, incluyendo la caza para la venta de pieles y las actividades agropecuarias (González et al., 1998; Politis et al., 2011).

En el presente, se lo encuentra en pequeñas poblaciones en el centro y norte de la Argentina, en el este de Bolivia, en el centro y sur del Brasil (Jackson, 1987; Pinder, 1997; Duarte, 1996), en Paraguay (Jackson, 1987) y en el norte y sureste de Uruguay (González et al., 2016), (Fig. 1).

El registro fósil del venado de campo es escaso, con algunas determinaciones dudosas o discutidas en la región Pampeana (Chimento et al., 2019). Aunque se ha reportado esta especie en el Pleistoceno tardío de la provincia de Santa Fe (Vezzosi, 2011). En Uruguay han sido descritos para la Formación Sopas, del Pleistoceno tardío (Ubilla et al., 2016 y referencias incluidas).

La primera descripción detallada, de la distribución del venado de campo para el Uruguay fue realizada por Jackson et al. (1987) y posteriormente, mediante estudios genéticos se han descrito dos subespecies de *O. bezoarticus*: *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* (Barbanti y González, 2010; Merino y Vieira, 2010; González, 2016).

1.1. Área de estudio

La mayor área de praderas en América del Sur se extiende desde el sur de Brasil, continuando a través de Uruguay hasta la Provincia de Buenos Aires en Argentina. Debido a su gran extensión, el gradiente climático determina diferencias fisiogeográficas y de indicadores de plantas y animales (Morrone, 2014), dentro de la que se pueden reconocer dos grandes biomas:

- Los Campos, que consisten en pastos, hierbas, algunos arbustos y ocasionalmente árboles, que se desarrollan en terrenos ondulados de fertilidad variable, en un clima subtropical húmedo, con predominancia de pastizales C₄.

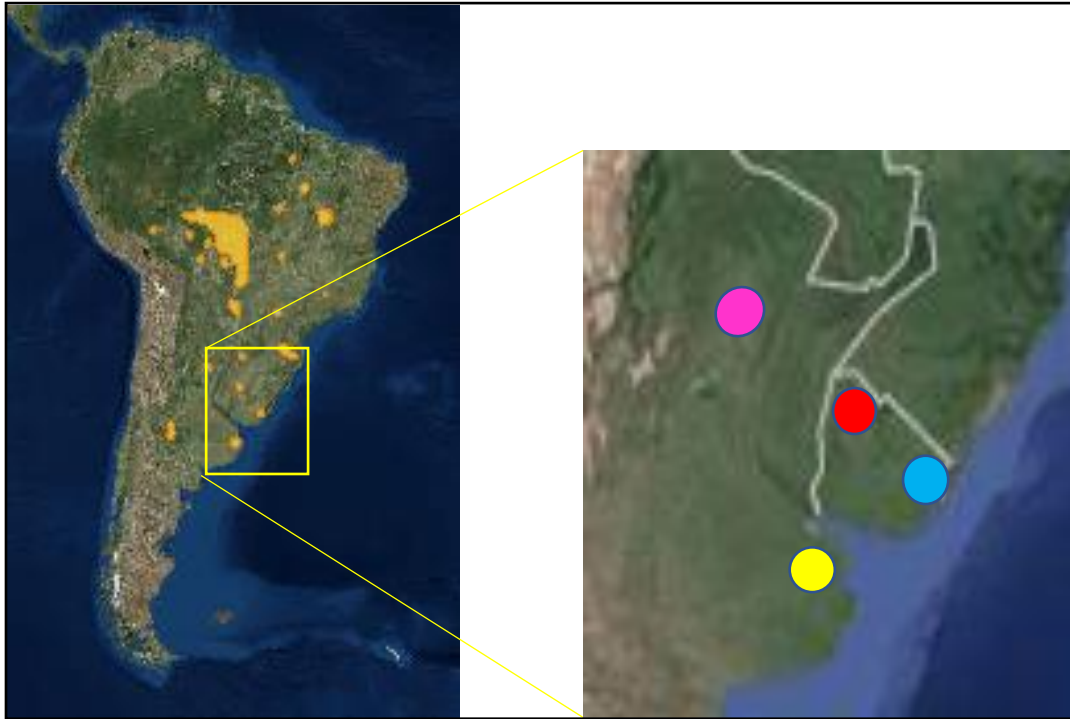


Fig. 1. Localización geográfica. A la izquierda, en naranja, se indican las poblaciones identificadas. A la derecha, en Uruguay hay dos poblaciones diferenciadas, *O. b. arerunguaensis* en el norte (círculo rojo) y *O. b. uruguayensis* en el sureste (círculo celeste). En Argentina, se tomaron muestras de *O. b. celer* en la Provincia de Buenos Aires (círculo amarillo) y *O. b. leucogaster* en la Provincia de Corrientes (círculo rosado) (Tomado y modificado de González et al., 2016).

La pampa, es una pradera templada o estepa subtropical con un clima que varía, de húmedo a árido y que se desarrolla en un terreno plano, fértil y sin árboles (Allen et al., 2011; Politis, 2008). La provincia de Buenos Aires, se caracteriza por tener mayormente praderas con rutas metabólicas C₃ (Burkat et al., 1999), mientras

que el territorio de Uruguay pertenece a lo que se conoce como Pampa uruguaya (Mourelle et al., 2017; Politis, 2008). Esta es una asociación de pradera pampeana (C₃) en el sur y pastizal de Campos (C₄) en el norte (Politis, 2008). Aunque hay zonas en las que coexisten ambas coberturas vegetales en mayor o menor proporción, dependiendo de las estaciones, ya que en invierno hay un aumento de pastos C₃ (Modernel et al., 2016; Mourelle y Prieto, 2012).

Uruguay también es considerado una zona de transición, ya que se encuentran plantas representativas de las Provincias Fitogeográficas Paranaense y Chaqueña (Haretche et al., 2012; Morrone, 2014). Además de los campos y pampa, se caracteriza por tener una rica flora arbustiva que se desarrolla como bosque de galería, serrano, de costa y sabanas arboladas, algarrobales, espinillares y palmares (Haretche et al., 2012; Brazeiro, 2015).

Las subespecies de venados, habitan eco-zonas con diferentes características ecológicas (Barbanti y González, 2010; González et al., 2016). *O. b. arerunguaensis* se encuentra en la denominada eco-zona de la Cuesta Basáltica (CB) (Fig. 2), en el norte del país (Brazeiro, 2015; Brazeiro et al., 2008). Actualmente los venados se encuentran en la Estancia “El Tapado” en la región del Arerunguá, donde se encuentran protegidos por sus dueños. Conviven con ganado bobino y ovino, pero pueden moverse libremente.

El ecosistema dominante es el de pradera de suelo basáltico, con diferentes tipos de pastos perennes, legumbres, juncos y herbáceas nativas. En esta Estancia el suelo donde habitan los venados se considera virgen, ya que hasta el momento

no ha sido cultivado. Contando por lo tanto con un tapiz forrajero de origen natural, algunos arbustos junto a los cauces de ríos y arroyos y grupos aislados de árboles (Castro 2014; González 1993; González et al. 2002; González y Sans, 2009).

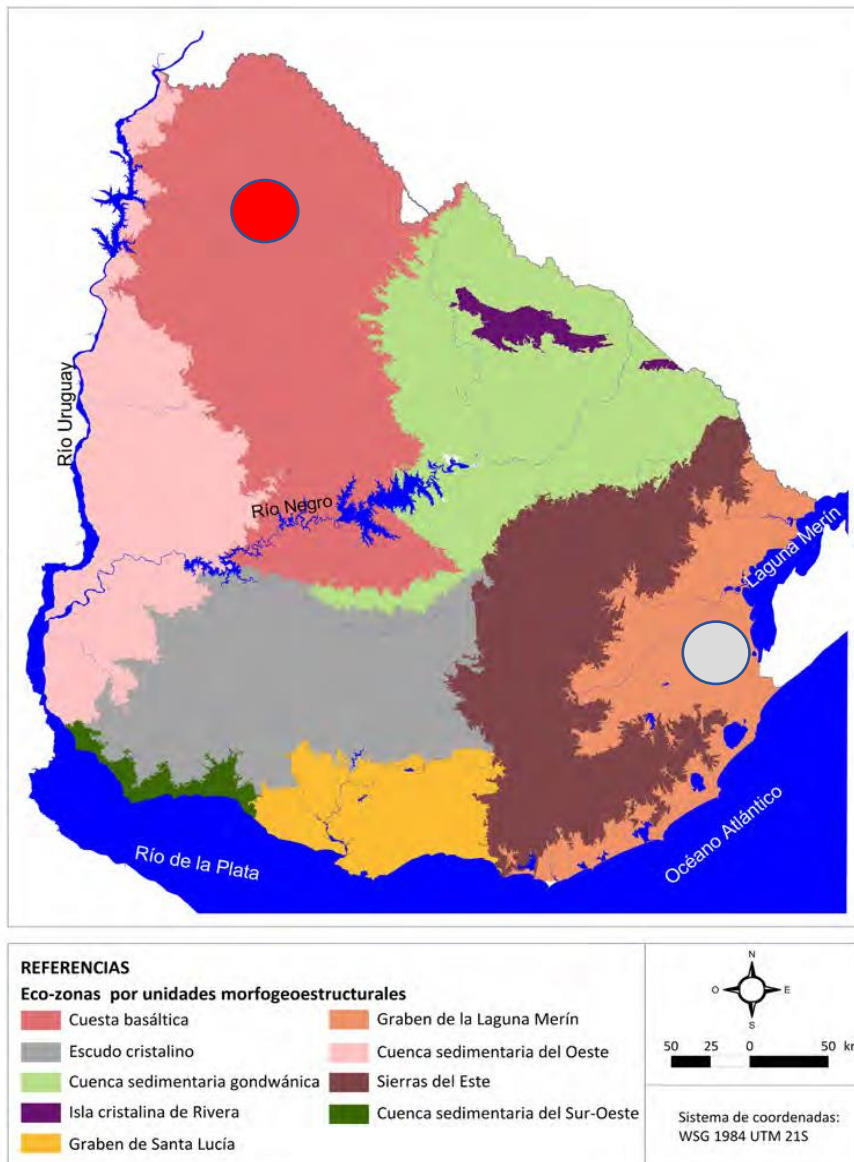


Figura 2. Eco-zonas donde se encuentran las dos poblaciones de *O. bezoarticus*. Círculo rojo, población de *O.b.arerunguansis*, eco-zona de la Cuesta Basáltica (rosado oscuro). Círculo gris, población de *O.b. uruguayensis*, eco-zona de la Cuenca de la Laguna Merín (naranja). Tomado y modificado de Brazeiro et al., 2015.

La población de *O. b. uruguayensis*, procede de la eco-zona de la Cuenca de la Laguna Merín (CLM) en el sureste del Uruguay (Brazeiro, 2015 y Brazeiro et al., 2008). Esta se encuentra en el Establecimiento “Los Ajos”, ubicado en la Reserva de Biosfera de “Bañados del Este”. (Duarte y González, 2010; González et al., 2016). Este Establecimiento, a diferencia de El Tapado en Salto, presenta un ambiente modificado y complejo de pasturas naturales con parches de cultivo de forrajeo (ryegrass). A partir de 1980 además, se comenzó con el cultivo de arroz y en 1990 se añadió el de soja (Cosse et al., 2009; González y Duarte, 2003). En este Establecimiento, los ciervos también pueden movilizarse libremente, entre los distintos parches cultivados y la pradera natural, además de convivir con ganado ovino y bovino (Cosse et al., 2010; González y Duarte 2003).

En Argentina Cabrera (1943), reportó dos subespecies: *O. b. celer* en la región pampeana y *O. b. leucogaster* en el Chaco y la región mesopotámica. En la Provincia de Buenos Aires, la Bahía de Samborombón es una franja estrecha que se extiende 120 km. a lo largo del estuario del Río de la Plata, en donde se halla la Reserva “Campos de Tuyu” (Fig. 1). Fito-geográficamente pertenece al Distrito Oriental de la Provincia, donde se encuentran las últimas praderas templadas C₃, pastizales halófilos, humedales, pastizales de médanos y comunidades boscosas de talas restringidas a las barrancas (Merino, 2003). Tiene relieve suave y clima templado húmedo, con lluvias todo el año. *O. b. celer* presenta una dieta mixta y muestra una marcada preferencia por las gramíneas, aunque de

estas, sólo unas pocas especies son predominantes en la dieta (Merino, 2003). En esta Reserva la oferta de gramíneas es de más del 80 %, mientras que las dicotiledóneas son escasas, aunque estas últimas constituyen una parte importante de la dieta (Jackson y Giulietti 1988; Merino, 2003).

La población de *O. b. leucogaster* se encuentra en el noreste de la Provincia de Corrientes (Fig. 1), donde los suelos son arenosos con pastizales inundables y lomadas con parches de chañares (Dellafiore et al., 2001; Demaria et al., 2003). En esa área, una gran parte de las especies nativas han sido reemplazadas por plantaciones de forraje y también se desarrolla cría de ganado y cultivo de arroz (González et al., 2010; Merino, 2003)

1.2. Dieta

Ozotoceros bezoarticus es una especie que en el correr de los años ha recibido mucha atención y ha sido exhaustivamente estudiada en diversos aspectos:

Morfológicos: Cabrera (1943); González et al. (2002); Pérez y Ungerfel. (2012).

Taxonómicos: Cabrera (1943); Dellafiore et al. (2001); González (1999); Jackson y Langguth (1987); Merino et al. (1993); Pautasso y Peña (2002).

Reproductivos: Duarte y García (1995); González Sierra (1985); Jackson y Langguth (1987); Merino et al. (1997); Ungerfel et al. (2008).

Conductuales: González (1997); González y Cosse (2000); Moore (2001); Sturm (2001); Vila y Beade (1997).

Dietarios: estudios que serán detallados infra.

Se ha observado, que los herbívoros pueden tener dietas muy variadas según el ambiente en el que se encuentren, por lo que se han propuesto distintas clasificaciones dietarias.

Una de las clasificaciones más utilizada, se basa en el tipo de plantas consumidas (Hofmann y Steward, 1972; Hofmann, 1985), donde se clasifican a los mamíferos herbívoros en: pastadores, cuya dieta contiene al menos un 75 % de gramíneas; ramoneadores, son los que tienen al menos un 75 % de hojas de dicotiledóneas, frutas, ramas, hojas de árboles y arbustos y por ultimo los tipos intermedios o mixtos, son aquellos que seleccionan el tipo de forrajeo de acuerdo a la oferta de la que disponen y escogen tanto pasturas como partes arbóreas (Hofmann, 1985).

Además del tipo de alimento consumido, hay otra clasificación que considera la estructura del tracto digestivo de los rumiantes (que está íntimamente ligada al tipo de alimentos que consumen y como lo adquieren). Donde la morfología dentaria y la flora bacteriana del aparato digestivo, son indicadores de distintas estrategias alimenticias (Hofmann, 1989). En esta clasificación existen tres categorías: selectores concentradores, con un tracto digestivo y rumen pequeño; pastadores, con un tracto digestivo largo y un estomago grande para los procesos fermentativos y por ultimo los tipos intermedios o mixer, que seleccionan el tipo de alimentos de manera oportunista (Illus y Gordon, 1999).

La dieta de *O. bezoarticus*, ha sido interpretada en diferentes formas, pero en general presenta un alto grado de selectividad en el forrajeo y dieta mixta con variaciones estacionales (Merino, 2003; Rodrigues y Monteiro-Filho, 1999). Es una especie que se adapta y se alimenta de los recursos disponibles. Consumen un amplio rango de pastos, arbustos y semillas (Jackson, 1987), además de elegir determinados estadios fenológicos más nutritivos y con alto valor energético, como son brotes y hojas nuevas, evitando en lo posible alimentos fibrosos (Cosse, 2009; González et al., 2010; Jackson y Giulietti, 1988; Rodrigues y Monteiro-Filho, 1999; Rodrigues, 1996).

Por otra parte, en el Establecimiento Los Ajos en Rocha, se realizó una necropsia, en la que se tomaron medidas del sistema digestivo de una hembra adulta (Cosse, 2009). Los resultados obtenidos, se compararon con los propuestos por Hoffman (1989) y estos son similares a los de la categoría mixer o intermedia (Cosse et al., 2009).

La información dietaria y la descripción de la necropsia (si se considera que los venados de campo en general tienen similar sistema digestivo), coinciden en que *O. bezoarticus* es un consumidor intermedio o mixto de plantas C₃-C₄, el que a su vez selecciona el tipo de forraje de manera oportunista (vide supra). A diferencia de los integrantes del género *Mazama*, que son consumidores que seleccionan los alimentos, pero que es preferentemente ramoneador C₃ (Cap. 4)

1.3. Plantas. Rutas metabólicas C₃ y C₄.

Las rutas metabólicas de las plantas imparten diferentes relaciones $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$), debido a un proceso llamado fraccionamiento, el que sucede en los tejidos fotosintéticos de las mismas (Bender, 1971).

Los pastos tropicales que usan la ruta metabólica Hatch-Slack (vía fotosintética C₄), se encuentran relativamente enriquecidos en el isótopo de carbono pesado (^{13}C) y sus valores isotópicos varían entre -19,0 y -9,0 ‰, con un promedio de -13,0 ‰ (Cerling et al., 1997; Ehleringer et al., 1987, 1991). Mientras que las plantas que emplean el ciclo de fijación de Calvin (vía fotosintética C₃), incluyen la mayoría de los árboles y arbustos (así como los pastos que crecen en regiones templadas), se encuentran relativamente empobrecidos en ^{13}C y típicamente varían entre -35,0 y -22,0 ‰ con un promedio de -27,0 ‰ (Cerling et al., 1997; Ehleringer et al., 1986, 1991). También existe una tercera ruta fotosintética, llamada CAM (crassulacean acid metabolism), que presenta valores intermedios a los de las vías C₃ y C₄. Las plantas CAM tienen una adaptación a ambientes áridos, pero muy pocos ungulados la utilizan como parte significativa de la dieta (Ehleringer et al., 1991).

Con el $\delta^{18}\text{O}$, entre otras cosas, se puede inferir si las plantas se encontraban bajo estrés hídrico. Los valores relativamente altos son consecuencia de estrés, mientras que los valores relativamente bajos indican algún tipo de protección contra el viento y el sol, de lo que se puede deducir el ambiente en el que crecen (Bocherens y Drucker, 2013).

Como consecuencia, valores empobrecidos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, representan plantas que crecen en un bosque o con algún tipo de cobertura a nivel del suelo, donde hay un menor estrés evaporativo. Mientras que los valores enriquecidos, indican ambientes abiertos como son las praderas, sabanas o también pueden indicar que esas plantas hayan crecido en los niveles superiores del dosel, donde la luz y el estrés evaporativo son mayores (Bocherens 2013; Nelson 2013; Van der Merwe y Medina 1991).

1.4. Isótopos en animales.

Los isótopos de carbono, proveen de un marcador natural que puede ser seguido a través de la dieta, ya que el $\delta^{13}\text{C}$ en los tejidos de los animales es un reflejo del $\delta^{13}\text{C}$ de la fuente de alimentación (Ambrose y DeNiro, 1986; van der Merwe y Medina, 1989). El $\delta^{13}\text{C}$ determina la fracción de biomasa C_3 o C_4 asimilada (Cerling y Harris 1999), lo que la convierte en una herramienta muy útil, tanto en la reconstrucción de la dieta de mamíferos actuales (van der Merwe y Medina, 1991), como fósiles (Cerling et al., 1997; MacFadden et al., 1996).

Los valores de $\delta^{18}\text{O}$ en el carbonato del esmalte dental, provee información adicional acerca de la dieta (Bocherens y Drucker, 2013; Cerling et al., 1997; de Melo Franca et al., 2015), lo que permite distinguir entre pastadores, ramoneadores, folívoros o frugívoros. Además se puede distinguir entre el consumo de hojas o de frutas. Ya que las frutas tienen valores de $\delta^{18}\text{O}$ más empobrecidos que las hojas, por dos motivos: la transpiración que soportan las hojas por un lado y al alto

contenido de agua presente en las frutas por otro (de Melo Franca, 2014; Nelson, 2013).

Los isótopos de carbono y oxígeno en el esmalte dental reflejan particularmente los valores isotópicos de la dieta y el agua ingerida, durante su formación (Cerling et al., 1997; van der Merwe y Medina, 1991). Cuando los resultados de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ son analizados en conjunto, pueden ayudar a inferir características ecológicas (Crowley, 2014), como ser el tipo de hábitat, preferencia por determinados alimentos y sugerir con que parte de las plantas se alimentaba preferencialmente (paastos, ramas, flores, hojas, brotes, etc.).

Aunque *O. bezoarticus* ha sido objeto de muchos tipos de estudios, este es el primero en utilizar isótopos estables como proxis, para obtener información dietaria y ambiental de las subespecies uruguayas y como comparación analizar los valores obtenidos en *O. b. leucogaster* y *O. b. celer* de Argentina.

2. Objetivos.

2.1. General.

Inferir el o los tipos de estrategias alimentarias, en las poblaciones de *Ozotoceros bezoarticus* de Uruguay (pastadores C_3 o C_4 , ramoneadores o que tengan dieta mixta), utilizando isótopos estables como proxis y evaluar si estos datos son concordantes o no, con la vegetación del área y

con el tipo de alimentación previamente reportado por otros autores, utilizando métodos no isotópicos.

2.2. Específicos.

- Caracterizar, en base a datos isotópicos, la dieta de las dos subespecies de venado de campo existentes en Uruguay.
- Comparar los resultados isotópicos y las dietas inferidas de las poblaciones *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* entre sí.
- Contrastar, los resultados de las poblaciones uruguayas con los ejemplares muestreados de *O. b. leucogaster* de la Provincia de Corrientes y de *O. b. celer* de la Provincia de Buenos Aires, en Argentina.
- Discutir si las inferencias dietarias y los ambientes asociados son coherentes o no, con la información previa disponible y evaluar el potencial de los isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$), en la predictibilidad de las dietas y ambientes de los venados de campo.

3. Materiales y métodos

3.1. Materiales

Abreviación institucional: MNHN: Museo Nacional de Historia Natural, Colección de Mamíferos, Montevideo, Uruguay; SG: Susana González, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE), Montevideo, Uruguay; ZVCM: Zoología de Vertebrados Colección de Mastozoología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay; MACN-Ma: Museo Argentino de Ciencias Naturales, Sección Mamíferos, Buenos Aires, Argentina. MLP: Museo de La Plata, La Plata, Argentina. GNS: Geological y Nuclear Science Laboratory (New Zealand). IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry.

En total, se tomaron 28 muestras de *Ozotoceros bezoarticus*. Once pertenecen a *O. b. uruguayensis* del Establecimiento Los Ajos, de los cuales tres son hembras y dos son juveniles. Ocho de la población de *O. b. arerunguaensis*, de la Estancia El Tapado, de los cuales dos son hembras y uno es juvenil. Además, se muestrearon dos ejemplares de machos adultos de *O. b. leucogaster*, de la Provincia de Corriente y siete de *O. b. celer*, también machos adultos, de la Provincia de Buenos Aires en Argentina, con fines comparativos.

3.2. Métodos

3.2.1. Toma de muestras de *O. bezoarticus*

Para realizar los análisis isotópicos de *O. bezoarticus* se eligió la fase mineral del esmalte dental (carbonatos = CO₃), puesto que se considera que mantiene un registro de la dieta en su totalidad, mientras que la fase orgánica (colágeno), corresponde mayormente a la fracción proteica de la misma (Bocherens y Drucker, 2013). Otro de los motivos para elegir la fase mineral es que, los datos aquí presentados, también son utilizados para generar una línea isotópica de base. Esta se usa como patrón de comparación con los especímenes fósiles que se estudian en esta tesis, con algunos resultados ya adelantados (Morosi y Ubilla, 2018, 2019, en capítulos 7 y 9). Por último, el esmalte dental se mantiene como un sistema relativamente cerrado, es más difícil que los cambios diagenéticos lo afecten, en la misma medida que sucede con los huesos y es un registro realista de la dieta en fósiles (Feranec y MacFadden, Koch et al. 1997; Wang y Cerling 1994).

El diseño de muestreo isotópico se realizó para obtener valores de $\delta^{13}\text{C}$ que fueran promedios de la dieta en su totalidad, no considerando un consumo estacional. Se tomaron muestras de la cara no oclusal, paralela al eje de crecimiento en toda la extensión del molar. En adultos se utilizaron los molares M3 o m3, ya que son los últimos en mineralizar en ungulados (Hillson, 1986). En el caso de los

juveniles, se tomaron muestras del M2 o m2. El método de obtención de muestras de esmalte dental sigue a Koch et al. (1997), con modificaciones (ver Cap. 4).

3.2.2. Análisis isotópicos

Los análisis isotópicos se realizaron utilizando Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS), en el Mass Spectrometry Isotope Facility del Laboratorio GNS, (www.gns.cri.nz/nic/stableisotopes), siguiendo los protocolos del mismo. La precisión analítica de estas medidas fue mejor que 0.10‰ para $\delta^{13}\text{C}$ y 0.20 ‰ para $\delta^{18}\text{O}$ (Fuente: GNS Laboratory).

Los resultados de las relaciones isotópicas de carbono y oxígeno se reportan relativos al isótopo estándar, usando la notación (δ), como $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, calculados en unidades por mil (‰). Las mismas se encuentran relacionadas a escalas internacionales (Peterson y Fry, 1987) y son relativas al estándar internacional Viena Pee Dee Belemnites (VPDB). Los resultados se informan en relación el estándar isotópico, usando la notación δ :

$$\delta^{13}\text{C} = \text{R muestra} / \text{R estándar} - 1 \times 1000$$

donde R muestra y R estándar son las relaciones ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) de la muestra y el estándar. Por más detalles ver Cap. 7 y 9.

3.2.3. Efecto Suess

Alrededor del año 1650, comenzaron a gestarse los primeros cambios en los niveles del CO₂ atmosférico, debido a distintas actividades humanas, como fue el cambio del uso de la tierra con fines agrícolas, mediante la quema de árboles. A lo que, en los últimos 200 años se sumó la industrialización y posteriormente un aumento en el uso de los combustibles fósiles, emitiendo aún más CO₂ a la atmosfera. Este CO₂ antropogénico se encuentra disminuido en su composición ¹³C/¹²C ($\delta^{13}\text{C}$) en relación al CO₂ atmosférico, lo que es conocido como “Efecto Suess” (Bowling et al., 2013; Keeling et al., 2011; Jain et al., 1996; Cerling y Harris, 1999; Schell, 2001). Esta variación en la composición del $\delta^{13}\text{C}$ atmosférico, se registra en casi todos los organismos vivos. Por este motivo los resultados isotópicos de plantas y animales colectados en diferentes años, deben ser corregidos para que sean comparables entre sí (Cerling y Harris, 1999).

3.2.3.1. Efecto Suess en Plantas

La flora existente en la Estancia El Tapado, fue tomada de Castro (2014) y la del Establecimiento Los Ajos de Cosse (2010), mientras que los valores isotópicos de las plantas fueron tomados de diferentes autores (ver Tabla 4 y 5). Los valores de las plantas, para que se pudieran cotejar con los resultados isotópicos de los ciervos, también se corrigieron por Efecto Suess. Para realizar esta corrección, dado

que no todas las fechas de colecta de las plantas estaban disponibles, tomamos como promedio cinco años entre la colecta y la publicación del artículo. Nos basamos en la observación de que, en trabajos similares generalmente transcurre ese periodo de tiempo, entre que se colectan las plantas y se publica el estudio.

En la elaboración de la línea de base isotópica de $\delta^{13}\text{C}$, se utilizaron solo las especies vegetales presentes en la Estancia El Tapado y en el Establecimiento Los Ajos. Este enfoque brinda, una idea más realista de la oferta alimenticia, que si se tomaran todas las especies descriptas para las respectivas ecozonas.

3.2.3.2. Efecto Suess en *Ozotoceros bezoarticus*

Los valores isotópicos de la vegetación de El Tapado y Los Ajos, son los utilizados como línea de base para realizar inferencias dietarias en las poblaciones de *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis*, tomando en consideración el enriquecimiento de $14.1 \pm 0.5 \text{ ‰}$ (Cerling y Harris, 1999), entre el $\delta^{13}\text{C}$ de la dieta y el $\delta^{13}\text{C}$ obtenido del esmalte dental. En el caso de los especímenes de *O. bezoarticus*, la fecha del nacimiento (salvo excepciones) no se encuentra en los catálogos. Para estimar la edad al momento de la muerte, se analizó el desgaste dental y se tomó en consideración que viven entre 12 y 22 años, si están en cautiverio (González, 2016). Con estos datos y tratando de ser conservativos, se estimó una edad promedio de 10 años, ya que las poblaciones estudiadas son silvestres. Para el desarrollo de la metodología de corrección por Efecto Suess ver Cap. 4.

El mismo procedimiento también se realizó con los ejemplares de *O. b. celer* y de *O. b. leucogaster*, tomados para comparación de las Provincias de Buenos Aires y Corrientes de Argentina.

3.2.4. Análisis cuantitativos

Los análisis cuantitativos se realizaron en Excel 2019 y para los Modelos Mixtos Bayesianos se utilizó el programa R (Parnell et al., 2013), con los paquetes SIAR y SIBER (2019), <http://www.r-project.org/>.

Se realizó el análisis ANOVA para comprobar si los valores isotópicos de los venados de las diferentes regiones son similares o no (material suplementario). Se usó el modelo para dos presas, lo que permite convertir los resultados isotópicos de la mezcla (dieta) en proporciones de las fuentes (en este caso el promedio de las plantas C₃ y C₄ de la CB y CLM). Luego de esta transformación, los valores en porcentajes pueden ser comparados con otros tipos tradicionales de información dietaria (Newsome et al., 2012).

Los valores isotópicos de los venados fueron promediados por localidad, para evaluar si las condiciones de ambiente y flora de cada ecozona, podría afectar las preferencias alimenticias de las subespecies o si como en el caso de *Mazama gouazoubira*, dichas preferencias eran similares, independientemente de la región en la que se encontraran (Cap. 4).

Tabla 1. valores isotópicos originales de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ y fecha de colecta estimada de la subespecie *O. b. arerunguensis* del Depto. de Salto y *O. b. uruguayensis* del Depto. de Rocha en Uruguay. CLM: Cuenca Laguna Merin; CB: Cuesta Basáltica; E/Depto: Ecozona/Departamento; UY: Uruguay; N: norte; SE: sureste.

SIL ID	Colección	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$	Colecta	E/Depto.	Localidad	Área	País
C-1500166	SG 1006 H	-7,31	-4,45	05-02-99	CB. Salto	Salto. El Tapado	N	UY
G-1304153	SG 1014	-6,79	-5,27	05-02-99	CB. Salto	Salto. El Tala Arerunguá.	N	UY
C-1500160	SG 48 J	-6,75	-3,74	11-02-96	CB. Salto	Salto. El Tala Arerunguá.	N	UY
C-1500161	SG 63 H	-6,24	-3,17	07-09-96	CB. Salto	Salto. El Tapado	N	UY
C-1400202	ZVCM1309	-8,43	-4,87	15-09-76	CB. Salto	Ao. Tapado 12 km al SW Arerunguá	N	UY
C-1400200	ZVCM1495	-9,08	-3,46	20-05-78	CB. Salto	El Tapado Invernada	N	UY
C-1400199	ZVCM1497	-9,83	-2,47	20-05-78	CB. Salto	El Tapado Invernada	N	UY
C-1400201	ZVCM1739	-8,94	-3,25	13-08-94	CB. Salto	El Tapado Invernada	N	UY
G-1304147	ZVCM1742	-14,01	-3,29	07-09-94	CLM. Rocha	Los Ajos	SE	UY
G-1304148	SG 1070	-13,68	-5,16	10-06-09	CLM. Rocha	Los Ajos. Sauce Caído. SC3.	SE	UY
C-1500162	SG 1082 H	-14,83	-3,74	01-12-08	CLM. Rocha	Los Ajos. Sauce Caído 3	SE	UY
G-1304149	SG 1083	-14,34	-4,91	01-01-04	CLM. Rocha	Los Ajos	SE	UY
C-1500159	SG 1084 H	-12,68	-3,32	01-12-08	CLM. Rocha	Los Ajos. Sauce Caído 3.	SE	UY
G-1304147	SG 1087	-13,28	-4,92	01-07-07	CLM. Rocha	Rocha. Los Ajos. La Cañada.	SE	UY
C-1500163	SG 1089 H	-13,34	-2,41	19-09-05	CLM. Rocha	Los Ajos. Sauce Caído. SC2.	SE	UY
C-1500164	SG 13 J	-15,34	-5,42	07-10-94	CLM. Rocha	Los Ajos	SE	UY
C-1500165	SG 59 J	-14,65	-3,35	05-06-98	CLM. Rocha	Los Ajos	SE	UY
C-1400203	SG1101	-12,68	-3,35	27-09-04	CLM. Rocha	Los Ajos. Sauce Caído. SC2.	SE	UY
C-1400204	SG139	-14,52	-3,56	01-11-02	CLM. Rocha	Los Ajos	SE	UY

Tabla 2. valores isotópicos originales de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ y fecha de colecta estimada de la subespecie *O. b. leucogaste* de la provincia de Corrientes y *O. b. celer* del de la Provincia de Corrientes, ambas en la Argentina. Uruguayeste; N: norte; SE: sureste.

SIL ID	Colección	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$	Colecta	Provincia	Localidad	Área	País
C-1400214	MACN 24523	-7,77	-1,91	01-01-24	Corrientes	Santo Tomé, Galarza	NE	AR
C-1400215	MACN 24749	-13,89	-3,04	01-01-24	Corrientes	Santo Tomé, Galarza	NE	AR
C-1400213	MACN 49183	-12,58	-3,03	01-01-49	Buenos Aires	General Lavalle, General Lavalle	SE	AR
C-1400208	MLP 1341	-12,68	0,71	19-06-70	Buenos Aires	Samborombón	SE	AR
C-1400209	MLP 18, VIII,92,15	-8,24	-4,39	18-08-92	Buenos Aires	Samborombón	SE	AR
C-1400207	MLP 18, VIII,92,2	-11,76	-1,30	18-08-92	Buenos Aires	Samborombón	SE	AR
C-1400211	MLP 18, VIII,92,7	-12,77	-2,70	18-08-92	Buenos Aires	Gral. Lavalle, Campos de Tuyu	SE	AR
C-1400206	MLP 18, VIII,92,9	-12,72	-2,59	18-08-92	Buenos Aires	Samborombón	SE	AR
C-1400210	MLP19, VI,00,2	-10,85	-2,87	19-06-00	Buenos Aires	Gral. Lavalle, Río Ajo	SE	AR

4. Resultados

Los datos originales de *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* se encuentran en la Tabla 1 y los de *O. b. celer* y *O. b. leucogaster* en la Tabla 2

4.1. Efecto Suess

Aunque el efecto Suess existe aproximadamente desde el año 1650 (vide supra), se tomaron los datos isotópicos a partir del año 1850, donde los cambios son más notables. En la gráfica se aprecian dos pendientes diferentes, la primera abarca desde 1850 a 1950 A.D. y la segunda de 1950 a 2015 A.D. (Fig. 3). Este comportamiento en los datos se debe al aumento diferencial en la atmósfera de CO_2

antropogénico y a la variación isotópica asociada a él (Bowling et al., 2013; Jain et al., 1996). Los valores numéricos de estas pendientes, son los utilizados para la corrección por Efecto Suess en plantas y animales y se encuentran resumidos y simplificados en la Tabla 3.

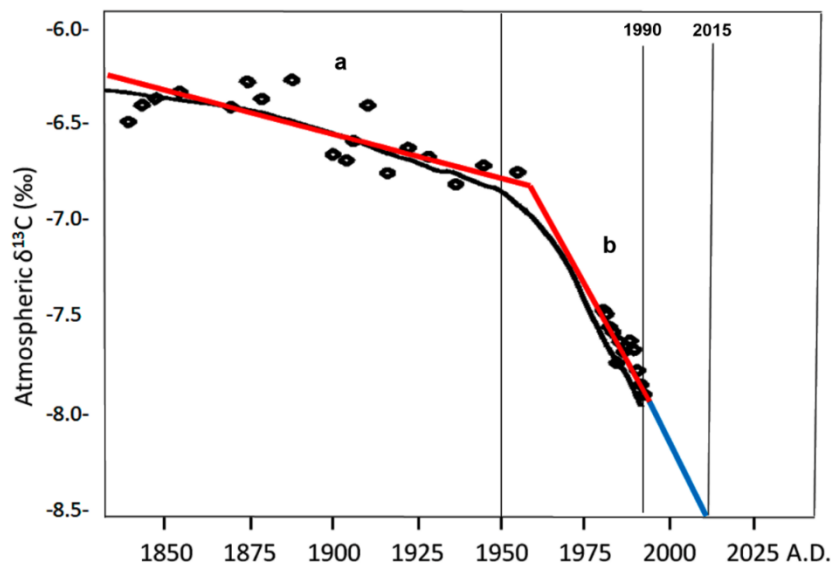


Fig. 3. Variación del $\delta^{13}\text{C}$ atmosférico: a) entre 1850 y 1950 A.D., b) entre 1950 y 2015 A.D. Se utilizaron el modelo y los datos de Jain et al. (1996), en color rojo y los datos de Bowling et al. (2013), en color azul, para la construcción de la curva.

Tabla 3. Simplificación de la corrección por Efecto Suess del $\delta^{13}\text{C}$ atmosférico: a) desde 1850 a 1950 A.D., b) desde 1950 a 2015 A.D., utilizando el modelo y los datos de Jain et al. (1996) y los datos de Bowling et al. (2013).

a)			b)		
Año	Corrección ‰	Autor	Año	Corrección ‰	Autor
1850	0.00	Jain et al. (1996)	1950	0.500	Jain et al. (1996)
1860	0.05	"	1955	0.625	"
1870	0.10	"	1960	0.750	"
1880	0.15	"	1965	0.875	"
1890	0.20	"	1970	1.000	"
1900	0.25	"	1975	1.125	"
1910	0.30	"	1980	1.250	"
1920	0.35	"	1985	1.375	"
1930	0.40	"	1990	1.500	"
1940	0.45	"	1995	1.625	Bowling et al. (2013)
1950	0.50	"	2000	1.750	"
			2005	1.875	"
			2010	2.000	"
			2015	2.125	"

4.1.1. Corrección por Efecto Suess en la vegetación

Luego de la corrección de los datos isotópicos por efecto Suess de la vegetación de la Estancia El Tapado, se obtuvo una media de $\delta^{13}\text{C}$ de -20.41 ‰, con un mínimo de -32.1 ‰ y un máximo de -9.92 ‰ (Tabla 4). Se tomaron en consideración tanto las gramíneas (C_4) como los árboles y arbustos (C_3) que fueron descriptos para esta Estancia (Castro, 2014., González, 2009).

Tabla 4. Vegetación descripta para la Estancia El Tapado y corrección por efecto Suess. El promedio de $\delta^{13}\text{C}$ es de -20.41 ‰. Tomada de Castro, 2014; González, 2009. *: fecha estimada de colecta.

Taxon	Autor	Fecha de colecta*	$\delta^{13}\text{C}$ Media	Efecto Suess	
				Corrección	$\delta^{13}\text{C}$ Suess
<i>Myrcianthes platensis</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-33,00	0,90	-32,10
<i>Rapanea lorentziana</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-32,00	1,58	-30,43
<i>Briza sp.</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-30,00	1,08	-28,93
<i>Lithrea molleoides</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-30,00	1,08	-28,93
<i>Scutia buxifolia</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-29,00	0,90	-28,10
<i>Salix humboldtiana</i>	Cloern et al. (2002)	1997	-28,00	1,68	-26,33
<i>Cyperaceae</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-27,00	1,60	-25,40
<i>Hordeum sp.</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-27,00	1,60	-25,40
<i>Phyllanthus sellowianus</i>	Ehleringer et al. (1987)	1982	-27,00	1,30	-25,70
<i>Poa lanigera</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-27,00	1,60	-25,40
<i>Pouteria salicifolia</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-27,00	1,58	-25,43
<i>Pteridofitas</i>	Sharma (2004)	1998	-27,00	1,70	-25,30
<i>Schinus longifolius</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-27,00	1,58	-25,43
<i>Sebastiana brasiliensis</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-27,00	1,58	-25,43
<i>Citharexylum montevidense</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-27,00	1,58	-25,43
<i>Celtis iguanaea</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-26,50	1,58	-24,93
<i>Koeleria sp</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-25,00	1,08	-23,93
<i>Vulpia sp</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-25,00	1,08	-23,93
<i>Piptochaetium stipoides</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-24,00	0,90	-23,10
<i>Stipa setigera</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-24,00	0,90	-23,10
<i>Chloris sp</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-16,00	1,08	-14,93
<i>Aristida uruguayensis</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-14,00	1,08	-12,93
<i>Schizachyrium sp</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-14,00	1,08	-12,93
<i>Andropogon sp</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-13,00	1,08	-11,93
<i>Coelorachis selloana</i>	Coussins et al. (2008)	2003	-13,00	1,83	-11,18
<i>Leptocory phiumlanatus</i>	Coussins et al. (2008)	2003	-13,00	1,83	-11,18
<i>Paspalum dilatatum</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-13,00	1,08	-11,93
<i>Paspalum plicatulum</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-13,00	1,08	-11,93
<i>Eustachys sp</i>	Ehleringer et al. (1987)	1982	-12,00	1,30	-10,70
<i>Microchloa sp</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-12,00	1,60	-10,40
<i>Paspalum notatum</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-12,00	1,08	-10,93
<i>Tripogon sp</i>	Ehleringer (1987)	1982	-12,00	1,30	-10,70
<i>Axonopus saffinis</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-11,00	1,08	-9,92
Promedio = -20,41					

En el Establecimiento Los Ajos (Tabla 5), el promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de *O. b. uruguayensis* fue de -23.88 ‰ con un mínimo de -29.42 ‰ y un máximo de -10.92 ‰, considerando todas las plantas relevadas en el Establecimiento ya sean nativas o cultivadas (Cosse, 2002).

Como se mencionó previamente, para la población de *O. b. uruguayensis*, hay estudios sobre la anatomía del tracto digestivo y también estudios de microhistología, estos últimos realizados en fecas (Cosse, 2002), en los que se halló una preferencia por ciertos tipos de plantas. Si se consideran solo las plantas consumidas (Tabla 5 en negrita), el promedio de $\delta^{13}\text{C}$ es aún un poco más bajo, de -24.57 ‰. Por otra parte, aunque no se han reportado rastros en el estudio de Cosse (2002), se sabe que consumen flores y brotes nuevos de árboles y arbustos (Rodrigues et al., 1999), lo que disminuiría aún más el promedio de $\delta^{13}\text{C}$.

Tabla 5. Vegetación descripta para el Establecimiento Los Ajos. Tomada de Cosse (2002) En negrita: taxa encontrados en los estudios de microhistología (Cosse, 2002). *: fecha estimada de colecta.

Taxon	Autor	Fecha de colecta*	$\delta^{13}\text{C}_{\text{Media}}$	Efecto Sues	Corrección $\delta^{13}\text{C}_{\text{Sues}}$
Malvaceae	Cerling Harris (1999)	1994	-28,00	1,60	-26,40
Asteraceae	Boutton et al., (1998)	1993	-28,00	1,53	-26,47
<i>Adesmia sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-22,00	0,90	-21,10
<i>Apium leptophyllum</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-22,00	0,90	-21,10
<i>Baccharis trimera</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-28,00	0,90	-27,10
<i>Briza minor</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-30,00	1,08	-28,92
<i>Bromus cathauticus</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-27,00	1,08	-25,92
<i>Bromus sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-28,00	0,90	-27,10
<i>Cynodon dactylon</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-14,00	1,60	-12,40
<i>Dichondra sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-30,00	0,90	-29,10
<i>Digitaria sp.</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-12,00	1,08	-10,92
<i>Eclipta belloides</i>	Davie (2014)	1991	-27,10	1,53	-25,47
<i>Eleocharis sp</i>	Hesla et al. (1982)	1977	-26,00	1,18	-24,82
<i>Evolvulus sericeous</i>	Davie (2014)	2009	-25,00	1,98	-23,02
<i>Gamochaeta sp.</i>	Ehleringer (1987)	1982	-28,00	1,30	-26,70
<i>Glandularia sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-23,00	0,90	-22,10
<i>Grindelia sp.</i>	Cloern et al. (2002)	1997	-28,00	1,68	-21,04
<i>Festusca australis</i>	Bonal et al. (2000)	2010	-27,00	2,00	-25,00
<i>Juncus sp.</i>	Cloern et al. (2002)	1997	-28,00	1,68	-26,32
<i>Lolium sp.</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-28,00	1,08	-26,92
<i>Ludwigia peploides</i>	Whitaker (2010)	2010	-14,00	2,00	-12,00
<i>Menta sp.</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-29,00	1,58	-27,42
<i>Myriophyllum brasiliensis</i>	Cloern et al. (2002)	1997	-23,00	1,68	-21,32
<i>Oriza sativa sp.</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-26,00	1,08	-24,92
<i>Oxalis sp.</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-31,00	1,58	-29,42
<i>Phylla sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-23,00	0,90	-22,10
<i>Plantago sp.</i>	Boutton et al. (1998)	1993	-29,00	1,58	-27,42
<i>Poa sp.</i>	Cerling Harris (1999)	1994	-27,00	1,60	-25,40
<i>Rhynchospora sp.</i>	Hesla et al. (1982)	1977	-30,00	1,18	-28,82
<i>Scirpus californicus</i>	Hesla et al. (1982)	1977	-27,00	1,18	-25,82
<i>Setaria sp.</i>	Waller Lewis (1978)	1973	-13,00	1,08	-11,92
<i>Sisyrinchium sp.</i>	Smith Epstein (1971)	1966	-27,00	0,90	-26,10
<i>Trifolium sp.</i>	Davie (2014)	2009	-26,20	1,98	-24,22
<i>Glycine max</i>	Davie (2014)	2009	-26,00	1,98	-24,02
Poaceae C ₃	Waller Lewis (1978)	1973	-28,00	1,08	-26,92
Promedio =					-23,88

4.1.2. Corrección por Efecto Suess de *O. bezoarticus*

Luego de la corrección de $\delta^{13}\text{C}$ por efecto Suess (Fig. 4, Tabla 6), *O. b arerunguaensis* exhibe un $\delta^{13}\text{C}$ de entre - 8.88 y - 4.84 ‰, con una media de - 6.66 ‰, (SD (1σ) = 1.50), asimilando un 55 % de plantas C_3 . El $\delta^{18}\text{O}$ tiene un mínimo de - 5.27 y un máximo de -2.47 ‰, con una media de - 3.84 ‰, (SD (1σ) = 0.95).

O. b. uruguayensis presenta valores significativamente más empobrecidos que los de *O. b. arerunguaensis*, el $\delta^{13}\text{C}$ se encuentra entre -13.74 y -10.98 ‰, con una media de -12.34 ‰, SD = 1.01, lo que equivale a un consumo promedio de plantas C_3 del 95 %. El $\delta^{18}\text{O}$ varía entre -5.42 y -2.41 ‰, con una media de -4.01 ‰ (SD = 1.01).

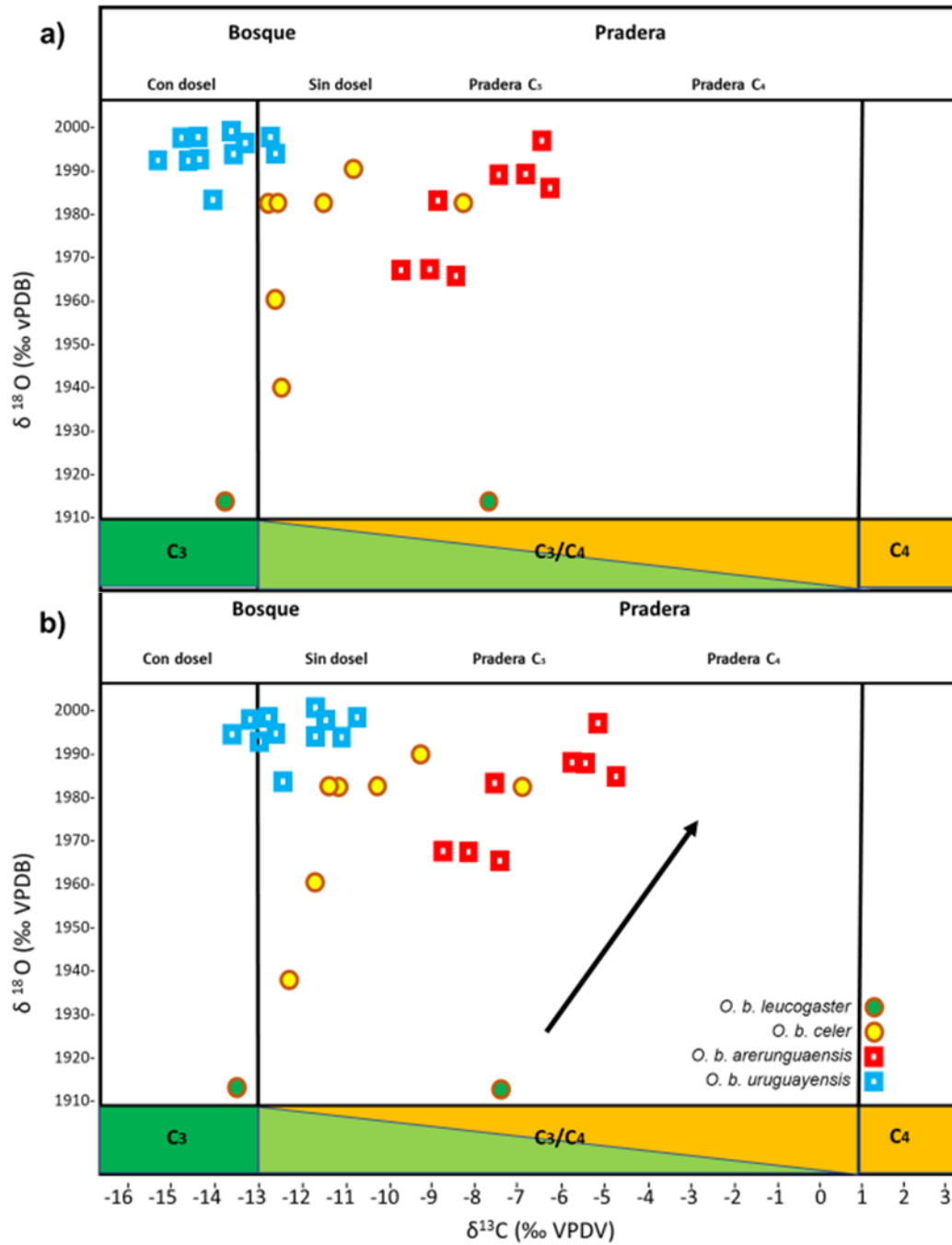


Figura 4. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ ordenados por fecha de nacimiento calculada. a) valores originales de $\delta^{13}\text{C}$. b) el $\delta^{13}\text{C}$ luego de la corrección por Efecto Suess, se observa el corrimiento más pronunciado hacia valores más positivos (flecha negra) en los datos de los últimos años.

Tabla 6. valores isotópicos corregidos por Efecto Suess de *O. b. arerunguaensis* (Salto) y *O. b. uruguayensis* (Rocha). H* = hembra. J* = juvenil. Fecha de nacimiento* = fecha de nacimiento estimada.

SIL ID	Colección	Fecha de nacimiento*	$\delta^{13}\text{C}$	Corrección	$\delta^{13}\text{CSuess}$	Depto.	País
C-1500166	SG 1006 - H*	1989	-7,31	1,475	-5,84	CB. Salto	UY (N)
G-1304153	SG 1014	1989	-6,79	1,475	-5,32	CB. Salto	UY (N)
C-1500160	SG 48 - J*	1996	-6,75	1,650	-5,10	CB. Salto	UY (N)
C-1500161	SG 63 - H*	1986	-6,24	1,400	-4,84	CB. Salto	UY (N)
C-1400202	ZVCM1309	1966	-8,43	0,900	-7,53	CB. Salto	UY (N)
C-1400200	ZVCM1495	1968	-9,08	0,950	-8,13	CB. Salto	UY (N)
C-1400199	ZVCM1497	1968	-9,83	0,950	-8,88	CB. Salto	UY (N)
C-1400201	ZVCM1739	1984	-8,94	1,350	-7,39	CB. Salto	UY (N)
G-1304147	ZVCM1742	1984	-14,01	1,350	-12,66	CLM. Rocha	UY (N)
G-1304148	SG 1070	1999	-13,68	1,725	-11,96	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500162	SG 1082 - H*	1998	-14,83	1,700	-13,13	CLM. Rocha	UY (SE)
G-1304149	SG 1083	1994	-14,34	1,600	-12,74	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500159	SG 1084 - H*	1998	-12,68	1,700	-10,98	CLM. Rocha	UY (SE)
G-1304147	SG 1087	1997	-13,28	1,675	-11,61	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500163	SG 1089 - H*	1995	-13,34	1,625	-11,72	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500164	SG 13 - J*	1994	-15,34	1,600	-13,74	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500165	SG 59 - J*	1998	-14,65	1,700	-12,95	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1400203	SG1101	1994	-12,68	1,600	-11,08	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1400204	SG139	1992	-14,52	1,550	-12,97	CLM. Rocha	UY (SE)

Los ejemplares de *O. b. celer* provenientes de la Provincia de Buenos Aires en Argentina, tienen un promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de -10.55 ‰ (SD = 1.87) con un mínimo de -12.26 ‰ y un máximo de -6.94 ‰ (Tabla 7 y 8). Lo que corresponde a un consumo promedio de 83 % de C_3 . Los valores de $\delta^{18}\text{O}$ se encuentran más enriquecidos que los que se hallaron en ambas poblaciones de Uruguay y varían entre -4.39 y 0.71 ‰, con una media de -2.40 ‰.

Tabla 7. Valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ de *O. b. leucogaster* (Corrientes) y *O. b. celer* (Buenos Aires) luego de corregido por efecto Suess. *= fecha de nacimiento estimada.

SIL ID	Colección	Fecha de nacimiento*	$\delta^{13}\text{C}$	Corrección	$\delta^{13}\text{C}_{\text{Suess}}$	Provincia	País
C-1400214	MACN 24523	1914	-7,77	0,320	-7,45	Corrientes	AR (NE)
C-1400215	MACN 24749	1914	-13,89	0,320	-13,57	Corrientes	AR (NE)
C-1400213	MACN 49183	1939	-12,58	0,450	-12,13	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400208	MLP 1341	1960	-12,68	0,750	-11,93	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400209	MLP 18, VIII,92,15	1982	-8,24	1,300	-6,94	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400207	MLP 18, VIII,92,2	1982	-11,76	1,300	-10,46	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400211	MLP 18, VIII,92,7	1982	-12,77	1,300	-11,47	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400206	MLP 18, VIII,92,9	1982	-12,72	1,300	-11,42	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400210	MLP 19, VI,00,2	1990	-10,85	1,500	-9,35	Buenos Aires	AR (SE)

O. b. leucogaster de la Provincia de Corrientes, presenta promedios isotópicos similares a los de la Provincia de Buenos Aires, con un $\delta^{13}\text{C}$ entre -13.57 y -7.45 ‰, y una media de -10.51 ‰, indicando un consumo promedio de 82 % de C_3 (Tabla 9). Los valores promedios de $\delta^{18}\text{O}$, también son similares a los de Buenos Aires, con una media de -2.48 ‰, aunque presentan un rango menor y varía entre -3.04 y -1.91 ‰.

Tabla 8. Promedios de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de los venados de campo por localidad, del norte y sueste de Uruguay y del noreste y sureste de Argentina.

País	Zona	Depto. O Provincia	$\delta^{13}\text{C}$ ‰				$\delta^{18}\text{O}$ ‰			
			min	Max	Media	SD (1 σ)	Min	Max	Media	SD (1 σ)
Uruguay	Norte	Salto	-8,88	-4,84	-6,63	1,54	-5,27	-2,47	-3,84	0,95
Uruguay	Sureste	Rocha	-13,74	-10,98	-12,29	0,94	-5,42	-2,41	-4,01	1,01
Argentina	Noreste	Corrientes	-13,57	-7,45	-10,51	4,33	-3,04	-1,91	-2,48	0,80
Argentina	Sureste	Buenos Aires	-12,13	-6,94	-10,53	1,87	-4,39	0,71	-2,40	1,41

Tabla 9. Resultados de la aplicación del Modelo Mixto Bayesiano para dos pesas, de las subespecies de *O. bezoarticus* estudiadas, tomando las plantas C₃ como variable. Se muestran los máximos, mínimos y medias en porcentaje por localidad.

País	Zona	Depto. O Provincia	Mixing model - C ₃ %			
			Taxón	min	Max	Media
Uruguay	Norte	Salto	<i>O. b. arerunguaensis</i>	41,00	70,00	55,00
Uruguay	sureste	Rocha	<i>O. b. uruguayensis</i>	86,00	107,00	95,00
Argentina	noreste	Corrientes	<i>O. b. leucogaster</i>	61,00	104,00	82,00
Argentina	sureste	Bs Aires	<i>O. b. celer</i>	56,00	95,00	83,00

4. Discusión

5.1. *O. b. arerunguaensis*

Si se toma la media isotópica, de la flora de El Tapado (-20.41 ‰) y se le suma el enriquecimiento isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ de 14.1 ± 0.5 ‰ (Cerling y Harris, 1999), entre productores (plantas) y el esmalte dental de los consumidores, el valor promedio del $\delta^{13}\text{C}$ de la población de *O. b. arerunguaensis* sería de -6.31 ± 0.5 ‰. Este es un valor similar al promedio obtenido en los venados de $\delta^{13}\text{C}$ de -6.63 ‰ (Tabla 8, Fig. 4). De estos datos se desprende un consumo promedio de plantas C₃ de 55 %, ubicándolo como un pastador mixto (Tabla 9), lo que concuerda con la oferta alimenticia de la que dispone (aproximadamente un 60 % plantas y pastos C₃).

González y Sans (2009), han descripto que la dieta de *O. b. arerunguaensis*, no solo varía dependiendo de las estaciones del año, sino también del lugar donde se alimenta, ya que la oferta no es la misma si los suelos son superficiales o profundos (González y Sans, 2009). En estas praderas, coexisten pastos C₄, ordinarios y duros (ejem: *Paspalum dilatatum*), con pastos finos C₃, (ejem: *Poa lanigera*, *Stipa setigera*). Además *O. b. arerunguaensis* se alimenta de diversas especies de gramíneas perennes, así como de herbáceas, leguminosas nativas y ciperáceas (González y Sans, 2009). Los resultados isotópicos se encuentran alineados con las estrategias alimenticias descriptas (Castro, 2014; Gonzales y Sans, 2009) y la oferta alimenticia de la que disponen.

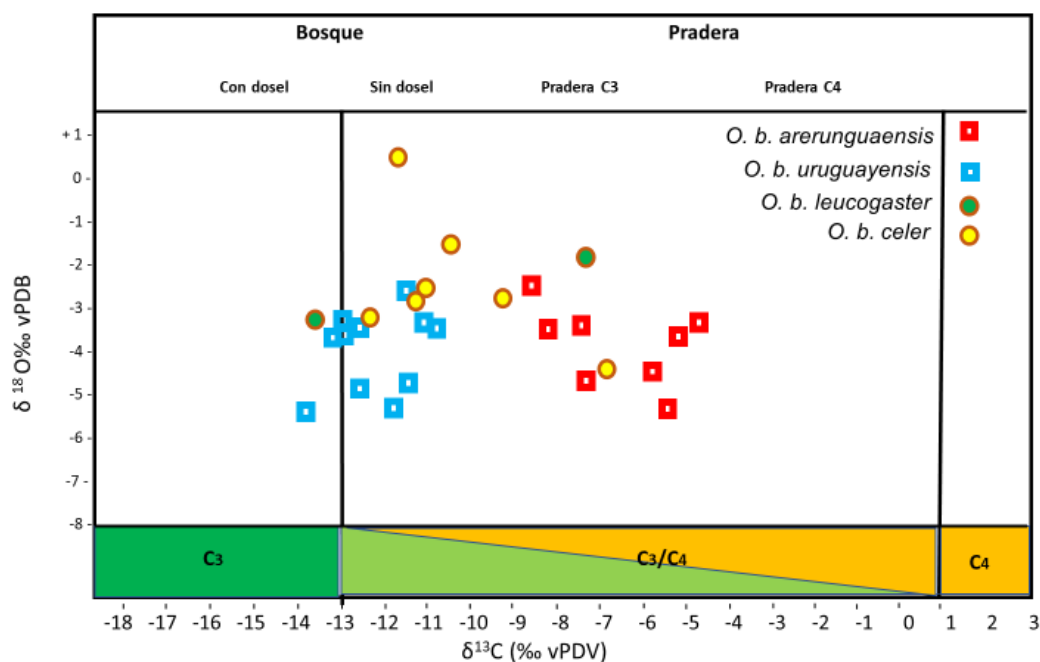


Figura 5. Biplot $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de las diferentes sub especies de *O. bezoarticus* estudiadas. Nota: el $\delta^{13}\text{C}$ ya se encuentra corregido por efecto Suess.

5.2. *O. b. uruguayensis*

En el Establecimiento Los Ajos, además de la pradera natural, los ciervos cuentan con parches de cultivos de ryegrass, arroz y soja (Cosse, 2002).

De acuerdo a los datos disponibles, *O. b. uruguayensis* no solo varia su dieta dependiendo de las estaciones del año, sino también de los cultivos a los que tienen libre acceso, mostrando una diversificación de la dieta desde el punto de vista nutricional (Cosse et al., 2009). En general tienen preferencia por unas quince especies vegetales (ver Tabla 3, taxa en negritas). Pero más que consumir plantas por su fisiología C₃ o C₄ (partes de árboles o pasturas), prefieren los brotes y hojas tiernas que se encuentren disponibles (Cosse et al., 2009).

La media isotópica, de la flora descripta para Los Ajos es de $\delta^{13}\text{C} = -23.88 \text{ ‰}$ (-24.57 ‰ si solo se promedian las plantas que se sabe fueron consumidas (Cosse, 2002)). Ahora, considerando el promedio de -24.57 ‰ y aplicando el fraccionamiento del $\delta^{13}\text{C}$ de $14.1 \pm 0.5 \text{ ‰}$ que hay entre presa y consumidor, el $\delta^{13}\text{C}$ promedio para la población de *O. b. uruguayensis* sería de $-10.47 \pm 0.5 \text{ ‰}$, pero los resultados de los análisis isotópicos son algo más empobrecidos que los esperados. El $\delta^{13}\text{C}$ tiene media de -12.29 ‰ y rango de entre -13.74 y -10.98 ‰ (Tabla 8, Fig 5) y una media de 95 % plantas C₃ (Fig. 6).

Cuando se evalúan las posibles causas de estos resultados, encontramos que, si bien la mayoría de las plantas descriptas para el Establecimiento Los Ajos tienen fisiología C₃ y que, de las quince especies más consumidas encontradas en

el estudio de fecas, solo dos tienen rutas fotosintéticas C_4 , deberían existir otras variables para que los resultados estén empobrecidos en relación a los calculados teóricamente.

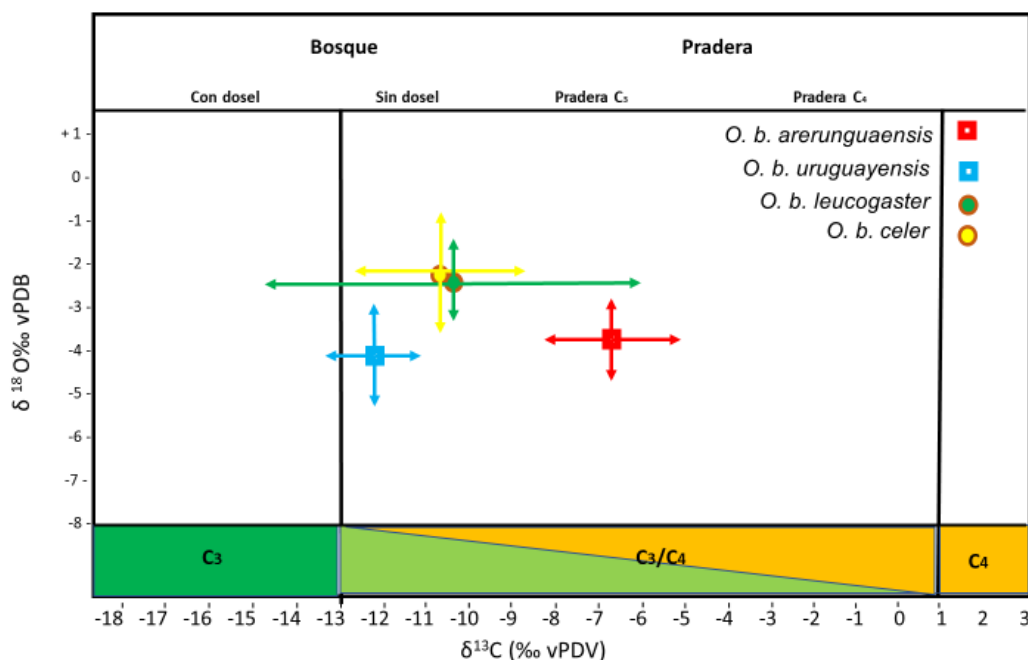


Fig.6. Biplot de promedios y desvíos estándar (1σ) de $\delta^{13}C$ y $\delta^{18}O$ de las subespecies estudiadas de *O. bezoarticus*.

Como se mencionó anteriormente (Cosse, 2002), Los Ajos es un establecimiento agrícola-ganadero, donde además de tener pradera natural, se cultiva ryegrass (*Lolium sp.*, *Trifolium sp.*) para consumo lanar y vacuno. A partir de 1980 también se cultiva arroz (*Oriza sativa*), comenzando aproximadamente en el año 1990 con plantaciones de soya (*Glycine max*). Lo que tienen en común estos cultivos, es que todos tienen fisiología C_3 (Tabla 3) y los ciervos pueden moverse

libremente entre las zonas de pradera natural y las diferentes áreas de cultivo. Cosse (2010) ha descripto, que se alimentan de dichos cultivos, cuando la pradera natural se encuentra mermada. Aquí un comportamiento selector concentrador (que varía de alimentación de acuerdo a las estaciones y la oferta), en el que los cultivos C_3 tienen un porcentaje importante en la dieta de *O. b. uruguayensis* explicaría los valores de $\delta^{13}C$ empobrecidos. Lo que nos llevaría a la misma conclusión de Cosse (2010), que los venados consumen lo que tiene a disposición, en este caso las partes más energéticas de las plantas sin importar la ruta fotosintética de las mismas.

O. b. uruguayensis presenta un $\delta^{18}O$ relativamente empobrecido, del que se puede inferir que las fuentes de alimentación presentan un estrés hídrico bajo, posiblemente debido a el porcentaje importante en la dieta de los cultivos.

5.3. *O. b. celer* y *O. b. leucogaster*

Los venados argentinos se han descripto como pastadores, aunque pueden incluir algún tipo de ramoneo en la dieta (Jackson y Giulietti, 1988).

Las muestras isotópicas de *O. b. celer*, provienen de la Bahía de Samborombón sensu lato y de Gral. Lavalle-Campos de Tuyu, ambos en la Provincia de Buenos Aires (Tabla 2).

Los datos de $\delta^{13}C$ presentan rangos similares en ambas localidades (salvo MLP 18, VIII,92,15 que tiene un valor comparativamente alto, (Tabla 7, Fig. 5)).

El $\delta^{18}O$ es más alto que el de las poblaciones de Uruguay y presenta un amplio rango, desde -4.39 a + 0.71‰. Una posible explicación para estos valores es que,

la Bahía de Samborombón (entre otras características fitogeográficas), presenta humedales en zonas bajas y médanos con pastizales (con suelos arenosos que no retienen el agua). Los médanos se encuentran más expuestos al sol y al viento que las áreas pantanosas, lo que generaría un ambiente de gran estrés hídrico en los médanos. Con zonas tan disímiles, los valores de $\delta^{18}\text{O}$ podrían indicar que no todos los ciervos se alimentan en los mismos parajes (Fig. 5).

Se ha descripto que *O. b. celer* de los Campos de Tuyú, tiene una dieta mixta con preferencia por las gramíneas (Merino, 2003). Los datos isotópicos también indicarían una dieta mixta $\text{C}_3\text{-C}_4$, similar a los resultados obtenidos por Scheifler et al. 2020. Con el agregado, de que la composición de la dieta, tiene una variación importante entre los individuos, entre 56 y 95 % de C_3 , aquí también podríamos considerar diferentes áreas de alimentación para un rango tan amplio en los porcentajes de C_3 . Esto implicaría que, en la Bahía de Samborombón, a pesar de que se la considera una pradera C_3 , hay una proporción importante de pasturas con fisiología C_4 , ya que en la dieta de algunos venados hay más del 40 % de pastos C_4 .

En el análisis de las muestras de *O. b. leucogaster*, aunque los dos especímenes provienen de la misma localidad (Tabla 2), también se observan valores que indican diferentes tipos de alimentación. MACN 24523, tiene un $\delta^{13}\text{C}$ enriquecido y un $\delta^{18}\text{O}$ relativamente alto, de lo que puede inferir una dieta mixta $\text{C}_3\text{-C}_4$, preferentemente en zonas abiertas de pastizales (Tablas 8 y 9). Mientras que

MACN 24749, tiene un $\delta^{13}\text{C}$ empobrecido, que indicaría una dieta C_3 exclusiva³. (Fig. 5 y 6).

Si tomamos en consideración las características fitogeográficas del Chaco húmedo, que presenta bosques, praderas, zonas inundables (Demaria et al., 2003) y plantaciones de forraje y arroz (González et al., 2010), estas dietas isotópicamente tan dispares pueden ser posibles.

Es interesante destacar, que tanto en *O. b. celer* como en *O. b. leucogaster*, se observa un amplio rango de valores de $\delta^{13}\text{C}$, pero si se toman los promedios de consumo de C_3 de ambas poblaciones (Tabla 8), estos se encuentran muy próximos, 83% para el primero y 82 % para el segundo, aunque difieren en el desvío estandar. Algo similar sucede con el $\delta^{18}\text{O}$, en el que ambos tienen un promedio muy parecido (Fig. 6).

Si bien no disponemos de datos isotópicos sobre alimentación de las poblaciones de *O. bezoarticus* de Brasil, en general coinciden con nuestros resultados. Se ha descrito que tienen una dieta mixta (Pinder 1997; Rodrigues & Monteiro-Filho 1999). A pesar de consumir una amplia variedad de plantas, eligen principalmente partes con alto contenido energético y de fácil digestión, como flores, hojas nuevas, arbustos (González et al., 2010; Jackson y Giulietti, 1988; Rodrigues, 1996; Rodrigues y Monteiro-Filho, 1999).

En El Cerrado, los venados de campo consumen preferentemente juncos y herbáceas, en lugar de las abundantes gramíneas C₄, que tienen bajo nivel nutricional y alto contenido en fibra (Pinder, 1997).

La población del Pantanal, selecciona brotes nuevos sin importar el tipo de planta al que pertenecen (Pinder, 1997). Considerando las preferencias dietarias, los venados de campo del Brasil tienen una estrategia oportunista de forrajeo con características intermedias o mixtas C₃-C₄ (Pinder, 1997). También se ha descrito el consumo de cultivos de soja, siendo incluso el principal recurso de la población cuando el plantío se encontraba verde y tenían brotes (Braga, 2004), similar a las poblaciones de Argentina.

5.4. Comparación entre poblaciones de *O. bezoarticus* uruguayas

O. b. arerunguaensis y *O. b. uruguayensis* se encuentran en distintas ecozonas dentro de Uruguay, las que presentan variaciones fitogeográficas propias. Las diferentes dietas isotópicas que se observan (Fig. 7), pueden explicarse por la plasticidad para adaptarse a la variación en la vegetación. Lo que les permite tener una estrategia forrajera oportunista y alimentarse en base a la oferta de la que disponen, la que isotópicamente es diferente. Se realizó el test ANOVA y se encontró que *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* no son similares entre sí (Material suplementario).

O. b. uruguayensis presenta valores de dietas C₃, inclusive más bajos que los de *O. b. celer* y *O. b. leucogaster* de Argentina (Fig. 6), los que tienen resultados

isotópicos en promedio similares. Podemos inferir que los valores más negativos de $\delta^{13}\text{C}$ en *O. b. uruguayensis* son debido al consumo de las plantaciones de ryegrass, arroz y soja, todas ellas C_3 , durante periodos prolongados durante el año cuando la pradera natural es escasa. Se realizó ANOVA y *O. b. uruguayensis* es similar a *O. b. celer* y *O. b. leucogaster* y por lo tanto también son diferentes a *O. b. arerunguaensis* (Material suplementario)

Otra alternativa que explicaría estos resultados (aunque no tan probable, en base a lo que se ha descrito de la dieta de los venados), es que tuvieran especial preferencia por especies con $\delta^{13}\text{C}$ muy bajos como, por ejemplo, *Baccharis trimera*, *Briza minor* o *Dichondra sp.* entre otras (Tabla 5).

Cuando analizamos los resultados isotópicos de la población de *O. b. arerunguaensis* encontramos que, si bien tiene una dieta mixta, ésta presenta un fuerte componente C_4 , que no se observa en las poblaciones argentinas, brasileñas ni en *O. b. uruguayensis* (Fig. 5 y 6).

Si se considera la dieta descrita para las poblaciones de venado de campo de Brasil, tanto en El Cerrado como en el Pantanal, existe una importante oferta de

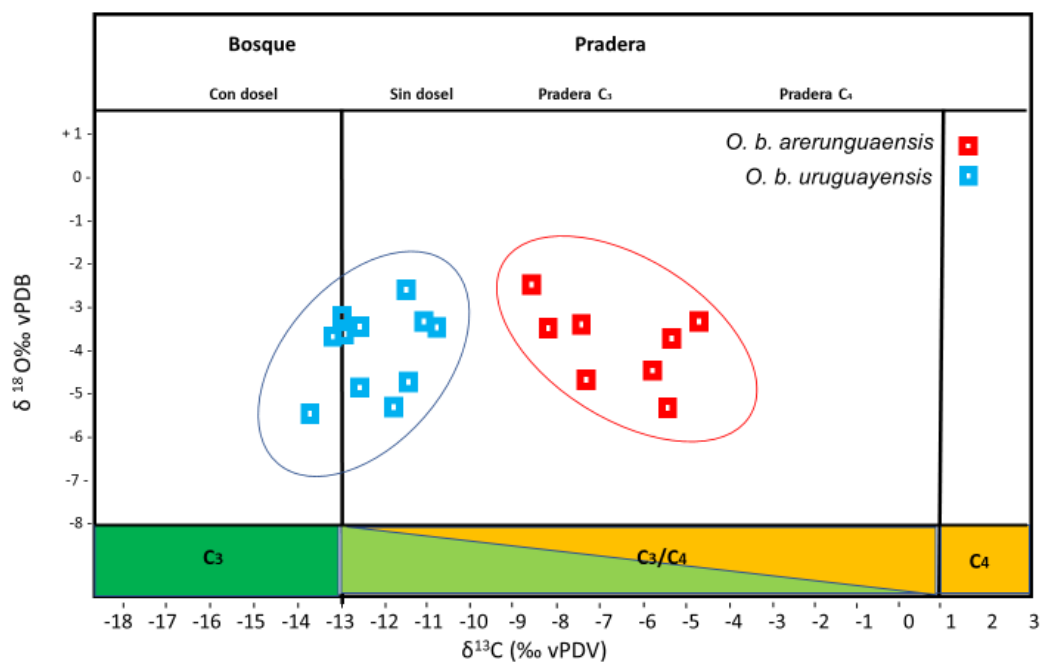


Fig. 7. Valores isotópicos de los individuos de las poblaciones de *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis*.

gramíneas C₄, pero estas casi no son consumidas por los venados. Se ha citado que ramonean brotes, hojas y flores, dependiendo de las características fenológicas de las plantas en los diferentes hábitats (Pinder, 1997). Basándonos en estas descripciones de dietas, si se les realizaran análisis isotópicos a los ciervos de Brasil, es probable que se obtengan valores de $\delta^{13}\text{C}$ bajos, similares a los de los ciervos de Argentina y a los de *O. b. uruguayensis*. Aunque en este caso los valores empobrecidos serían por consumo de plantas C₃ (partes de árboles y arbustos) en lugar de pasturas C₃.

Por lo que se destaca que *O. b. arerunguaensis* expresa valores isotópicos que indican dietas mixtas C₃- C₄, siendo la única de las subespecies analizadas

isotópicamente que presenta porcentajes comparativamente altos de pastos C₄ en la dieta.

5.5. Hembras y juveniles.

Como se ha visto, las poblaciones de *O. bezoarticus* tienen la capacidad de realizar cambios rápidos y notorios en respuesta a las variaciones en el hábitat y la vegetación. Por otra parte, los requerimientos nutricionales no solo varían estacionalmente, sino que también lo hacen en función del sexo, edad y eventos del ciclo de vida como el crecimiento de astas, celo, preñez y lactancia (Cosse, 2009; Jackson, 1987).

La gestación de *O. bezoarticus* es de aproximadamente siete meses y la mayoría de los cervatillos nacen en primavera, aunque pueden nacer en cualquier época del año (Jackson, 1987).

Durante el último estadio de la gestación las hembras se movilizan poco, utilizando la mayor parte de su tiempo para descansar. Durante el periodo de amamantamiento, esconden a la cría como estrategia para evitar a los depredadores y se quedan en las inmediaciones (Jackson y Langguth, 1987).

Este tipo de conductas implicaría que hembras y juveniles, son isotópicamente representativos de la oferta de plantas del área en que se encuentran (reflejando el $\delta^{13}\text{C}$ de la mismas), a diferencia de los machos que se trasladan donde encuentren mejores fuentes de alimento a medida que varían las estaciones.

Al comparar los resultados isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ por sexo y edad encontramos que los juveniles tienen posiciones extremas con relación al grupo al que pertenecen (Fig. 8). En la población de *O. b. arerunguaensis* hembras y juveniles son los que presentan valores isotópicos más enriquecidos, estas variaciones isotópicas, se pueden adjudicar a cambios comportamentales en las hembras durante la preñez y el periodo de amamantamiento. Mientras que en la población de *O. b. uruguayensis* ocurre a la inversa, los juveniles son los que tienen los valores más empobrecidos, mientras que las hembras tienen casi las mismas señales isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ que los machos (Fig. 8). Una interpretación posible es que, como tienen libre acceso a las pasturas naturales y los plantíos de ryegrass, arroz y soja del área en la que habitan (Cosse, 2010), esto les permitiría a las hembras, mantener las estrategias de protección de los juveniles al mismo tiempo que acceder a los cultivos más nutritivos. Motivo por el cual en esta población, hembras y machos tienen valores de $\delta^{13}\text{C}$ similares, ya que no tienen que trasladarse grandes distancias para obtener alimento de calidad.

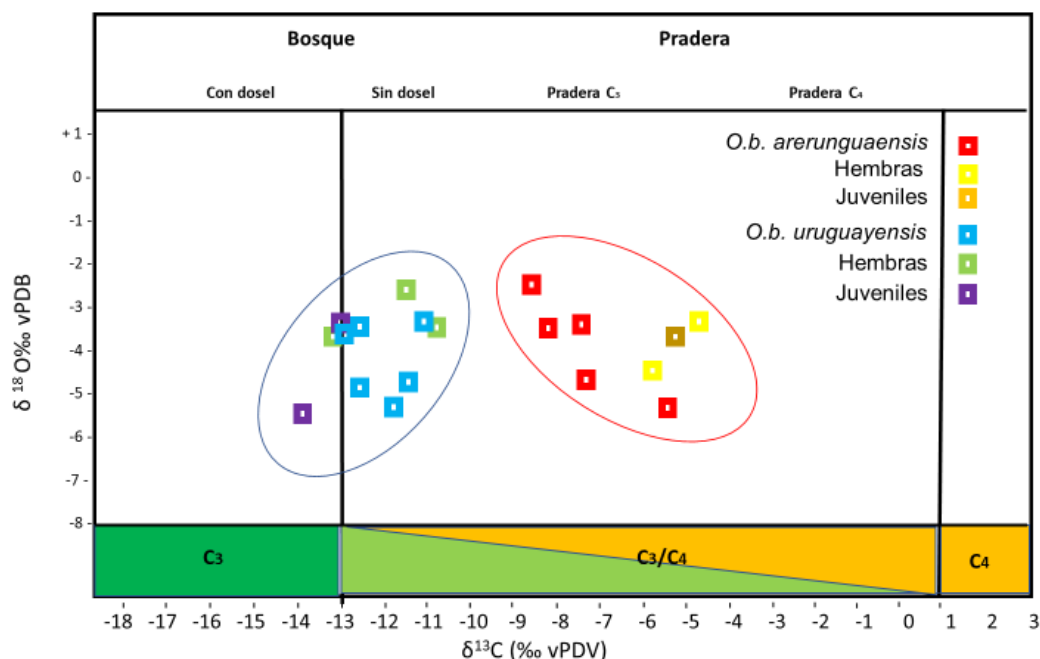


Fig. 8. Distribución isotópica de *O. b. arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis*, agrupados por localidad. Distinguiendo entre hembras, machos y juveniles.

Para explicar estos resultados de los juveniles, se podrían considerar dos escenarios diferentes: a) que los juveniles durante el amamantamiento y luego del destete consumieran selectivamente mayor cantidad de plantas C_3 que los adultos, ya que en general son más tiernas y palatables (Anderson, 2006); b) que estos valores de $\delta^{13}C$ empobrecidos se podrían adjudicar al “efecto maternal”.

Dicho efecto es la sumatoria de una dieta sesgada de la madre hacia plantas C_3 (en este caso), durante la gestación y la alimentación del juvenil con leche materna. En la que, de forma natural ocurre un fraccionamiento isotópico diferencial en relación al que ocurre en el carbono proveniente de las plantas, el que se traslada al juvenil durante el amamantamiento (Chinique de Armas et al., 2017; Dupras y Tocheri, 2007; Wright y Schwarcz, 1998; Witt y Ayliffe, 2001). Estos factores

comportamentales y de fraccionamiento diferencial podrían explicar por qué los juveniles presentan valores de $\delta^{13}\text{C}$ más bajos que los de la población adulta de *O. b. uruguayensis* (Fig. 8).

Este efecto maternal, se puede observar en los mamíferos dependiendo del estado ontogenético en que se encuentren. Los tejidos formados durante la gestación y primeros meses de vida, son un reflejo de la dieta materna y pueden tener valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ diferentes con relación a aquellos formados en la adultez, como se observa en este caso (Bocherens y Drucker, 2013; Dupras y Tocheri, 2007)

Al analizar los resultados de $\delta^{13}\text{C}$ por sexo y edad en la población de *O. b. arerunguaensis*, encontramos que las hembras y los juveniles presentan los valores más enriquecidos (Fig.8). Esto puede ser debido, como dijimos previamente, al cambio comportamental de las hembras preñadas, que se movilizan poco y la mayoría de la oferta alimenticia que tienen en los alrededores es de pradera natural con un alto componente C_4 , mientras que en los machos el $\delta^{13}\text{C}$ está relativamente empobrecido. Con estos datos se puede inferir, que los machos además de las pasturas C_4 que tienen en su entorno, se movilizan para conseguir alimento más nutritivo (C_3) cuando es necesario.

El juvenil de *O. b. arerunguaensis* (SG 48), presenta un $\delta^{13}\text{C}$ enriquecido en relación al de los machos y se encuentra entre los valores de ambas hembras (SG 1006 y SG 63). Con un solo valor isotópico de juvenil es aventurado decir que se

está observando el efecto maternal, pero en *O. b. uruguayensis* también se observan valores de una hembra (SG 1082) y un juvenil (SG 59) muy similares (Fig. 8).

Los datos isotópicos de juveniles que se analizaron en este trabajo son pocos (N=3), de todos modos, se puede plantear la hipótesis del efecto maternal para los juveniles. Consideramos estos datos preliminares, ya que se necesitaría un N mayor de juveniles, para que estas inferencias tengan una mayor robustez.

6. Conclusiones generales

En base a los datos isotópicos, podemos inferir que los venados de campo en Uruguay, pueden alimentarse y sobrevivir de las plantas y recursos disponibles en el entorno en el que habitan, presentando una estrategia alimentaria mixta con un grado importante de selectividad.

O. b. arerunguaensis, tiene una dieta isotópicamente mixta C₃ -C₄, en concordancia con la flora que se encuentra en el área en que viven y es la única subespecie aquí estudiada con un porcentaje importante de pastos C₄ en la dieta.

O. b. uruguayensis por el contrario tiene una dieta casi exclusivamente de ramoneador-pastador C₃, similar a la de las poblaciones de *O. b. celer* y *O. b. leucogaster* en la Argentina. Con la diferencia de que *O. b. uruguayensis* presenta valores más bajos que estos últimos (Fig. 4), lo que se puede atribuir al consumo

de plantaciones C₃ de ryegrass, arroz y soja que se encuentran intercaladas con pradera natural en el área que habitan.

Los juveniles de *O. b. uruguayensis* tienen los valores de $\delta^{13}\text{C}$ más empobrecidos del grupo, mientras que los juveniles en la población de *O. b. arerunguaensis* se encuentran entre los más enriquecidos. Probablemente debido al comportamiento materno y al fraccionamiento diferencial del carbono en la leche materna.

Los datos isotópicos con los que se reconstruyeron los tipos de dieta de las distintas subespecies, ratifican los resultados de la mayoría de los autores citados, que utilizaron métodos no isotópicos para deducir dieta en venados de campo. En donde se ha descrito a *O. bezoarticus* como pastador ramoneador oportunista, que se alimenta de una amplia variedad de fuentes dependiendo del ambiente y hábitat en el que viven. Estas estrategias implican la posibilidad de utilizar los recursos disponibles y además pueden ser explicadas por la variación fitogeográfica en la distribución de los venados.

Los venados de campo de Uruguay son buenos predictores de estrategias alimentarias y dieta, no así de ambientes ya que, al ser selectivo, isotópicamente puede diferir de la vegetación que tiene en su entorno, como en el caso de la población de *O. b. uruguayensis* o los machos de *O. b. arerunguaensis*.

7. Referencias

- Ambrose y Deniro. 1986. The isotopic ecology of East African mammals *Oecologia*.
- Allen, VG., Batello, C., Berretta, EJ., Hodgson, J., Kothmann, M., Li, X., McIvor, J., Milne, J., Morris, C., Peeters, A., Sanderson, M. 2011 An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science*
- Anderson, RC. 2006. Evolution and origin of the central grassland of North America: climate, fire, and mammalian grazers. *J. Torrey Bot. Soc.* 133 (4), 626e647.
- Barbanti, J. y González, S. 2010. Neotropical Cervidology. *Biology and Medicine of Latin American Deer*. Funep / IUCN.
- Bender, MM. 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry* 10 (6), 1239e1244.
- Bocherens H, Drucker, DG. 2013. Terrestrial teeth and bones. In: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1. Elsevier, Amsterdam, pp. 304e314.
- Bonal, D., Sabatier, D., Montpied, P., Tremeaux, D., Guehl, JM. 2000. Interspecific variability of $\delta^{13}\text{C}$ among trees in rainforests of French Guiana: functional groups and canopy integration. *Oecologia* 124:454–468

- Boutton, TW., Archer, SR., Midwood, AJ., Zitzer, S., Bol, R. 1998. $\delta^{13}\text{C}$ values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. *Geoderma* 82, 5–41.
- Bowling, DR., Ballantyne, AP., Miller, JB., Burn, S., Conway, TJ., Menzer, O., Stephens, BB., Vaughn, BH. 2013. Ecological processes dominate the ^{13}C land disequilibrium in a Rocky Mountain subalpine forest. *Glob. Biogeochem. Cycles* 28, 352–370.
- Braga, FG. 2004. Influência da agricultura na distribuição espacial de *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758) (veado campeiro), em Piraí do Sul, Paraná – parâmetros populacionais e uso do ambiente. Dissertação. Mestrado em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 61p.
- Brazeiro, A., Achkar, M., Canavero, A. 2008. Prioridades Geograficas para la Conservacion de la Biodiversidad Terrestre de Uruguay. Resumen Ejecutivo PDT 32-26. 48pp.
- Brazeiro, A. 2015: Eco-Regiones de Uruguay: Biodiversidad, Presiones y Conservación. Aportes a la Estrategia Nacional de Biodiversidad. Facultad de Ciencias, CIEDUR, VS-Uruguay, SZU. Montevideo. 122p.
- Burkart, R., Barbaro, N., Sanchez, R., Gomez, D. 1999. Eco-regiones de la Argentina. Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires. Argentina. 43 pp

- Cabrera, A. 1943. Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica. *Revista del Museo de La Plata. Sec. Zool*; 18: 5-41.
- Castro, M. y Rosadilla, D. 2014. DINÁMICA POBLACIONAL DE ENDOPARÁSITOS EN POBLACIONES DE VENADO DE CAMPO (*Ozotoceros bezoarticus*), OVINOS (*Ovis aries*) Y BOVINOS (*Bostaurus*) EN LA ZONA DE ARERUNGUÁ-SALTO. TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Orientación: Producción animal. MODALIDAD: Ensayo experimental. MONTEVIDEO, URUGUAY.
- Cerling, TE., Harris, JM., MacFadden, BJ., Leakey, MG., Quadek, J., Eisenmann, V., Ehleringer, JR. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389:153–158.
- Cerling, TE, Harris, JM. 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120 (3), 347–363.
- Chinique de Armas, Y., Roksandic, M., Nikitovic, D., Rodriguez Suarez, R., Smith, D., Kanik N. 2017. Isotopic reconstruction of the weaning process in the archaeological population of Canimar Abajo, Cuba: a Bayesian probability mixing model approach.
- Cione, A., Gasparini, G., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Tonni, E. 2015. The Great American Biotic Interchange. A South American Perspective. 97 pp. Springer Briefs in Earth System Sciences.

- Cloern, JE., Canuel, EA. y Harris, D. 2002. Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnology and Oceanography* 47(3), 713–729
- Cosse, M. 2002. Dieta y solapamiento de la población de venado de campo “Los Ajos”, (*Ozotoceros bezoarticus* L, 1758) (*ARTIODACTYLA: CERVIDAE*). M.Sc. thesis. PEDECIBA, Facultad de Ciencias, Udelar, Montevideo.
- Cosse, M., Giménez Dixon, M. and González, S. 2009. Pampas deer feeding ecology: conservation implications in Uruguay. *Iheringia, Ser. Zool., Porto Alegre* 99(2): 158-164.
- Cosse, M. 2010. Uso de hábitat y estructura de la subespecie *Ozotoceros bezoarticus uruguayensis*. Pautas para su conservación. PhD thesis, Universidad de la República, **2010**
- Coussins, A., Badger, MR. y von Caemmerer, S. 2008. C₄ photosynthetic isotope exchange in NAD-ME- and NADP-ME-type grasses *Journal of Experimental Botany*, Vol. 59, No. 7, pp. 1695–1703, 2008. doi:10.1093/jxb/ern001
- Crowley, BE. 2014. Oxygen isotope values in bone carbonate and collagen are consistently offset for New World monkeys. *Biol. Lett.* 10, 20140759. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0759>.
- Davie, H., Murdoch, J., Lini, A., Ankhbayar, L., Batdorj, S. 2014. Carbon and Nitrogen Stable Isotope Values for Plants and Mammals in a Semi-Desert Region of Mongolia. *Mongolian Journal of Biological Sciences* 12 (1-2) 33-43. 10.22353/mjbs.2014.12.04

- Dellafiore, CM., Demarías, M., Maceira, N., Bucher, E. 2001. Distribution and Abundance of The Pampas Deer in San Luis Province, Argentina. *Mastozoología Neotropical*. 10(1):41-47.
- Demaria, MR., Mcshea, WJ., Koy, K., Maceira NO. 2003. Pampas deer conservation with respect to habitat loss and protected area considerations in San Luis, Argentina. *Biological Conservation* 115: 121-130.
- de Melo França, LM., Dantas, MAT., Bocchiglieri, A., Cherkinsky, A., de Souza Ribeiro, A., Bocherens, H. 2014. Chronology and ancient feeding ecology of two upper Pleistocene megamammals from the Brazilian Intertropical Region. *Quat. Sci. Rev.* 99, 78e83.
- de Melo França, LM., de Acevedo, L., Dantas, MAT., Bocchiglieri, A., Dos Santos Avilla, L., Pereira Lopez, R., Lopez da Silva, JL., 2015. Review of feeding ecology data of Late Pleistocene mammalian herbivores from South America and discussions on niche differentiation. *Earth Sci. Rev.* 140, 158e165.
- Duarte, JMB. y Garcia, JM. 1995. Reprodução assistida em cervídae brasileiros. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 19(1-2):111-121.
- Duarte, JMB. 1996. Guia de identificação de cervídeos brasileiros. FUNEP, Jaboticabal, 14p.
- Dupras, TL. y Tocheri, MW. 2007. Reconstructing Infant Weaning Histories at Roman Period Kellis, Egypt Using Stable Isotope Analysis of Dentition. *American Journal of Physical Anthropology* 134: 63–74.

- Ehleringer, JR., Lin, ZF., Field, CB., Kuo, CY. 1987. Leaf carbon isotope ratios of plants from a subtropical monsoon forest. *Oecologia* 72:109-14 29.
- Ehleringer, JR., Sage, RF., Flanagan, LB., Pearcy, RW., 1991. Climate change and the evolution of C₄ photosynthesis. *Trends Ecol. Evol.* 6 (3), 95e99.
- Feranec, RS. y MacFadden, BJ. 2006. Isotopic discrimination of resource partitioning among ungulates in C₃-dominated communities from the Miocene of Florida and California *Paleobiology*, 32(2), 2006, pp. 191–205
- González Sierra, U. T. 1985. Venado de campo-*Ozotoceros bezoarticus*- en semi cautividad. Estación de cría de fauna autóctona de Piriápolis, 1 (1):1-21.
- González, S. 1993. Situación poblacional del venado de campo en el Uruguay. In: Pampas Deer Population and Habitat Viability Assessment, Section 6 (ed. CBSG/IUCN), Pp. 1-9 Workshop Briefing Book, Apple Valley, Minnesota.
- González, S. 1997. Estudio de la variabilidad morfológica, genética y molecular de poblaciones relictuales de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) y sus consecuencias para la conservación. PhD. dissertation. Universidad de la República Oriental del Uruguay
- González, S., Maldonado, J., Leonard, J., Vilà, C., Barbanti Duarte, J., Merino, M., Brum-Zorrilla, N., Wayne, R. 1998. Conservation genetics of the endangered pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Molecular Ecology*; 7: 47–56. Disponible en: doi:10.1046/j.1365-294x.1998.00303.x.

- González, S. 1999. *In situ* and *ex situ* conservation of the Pampas deer. Proceeding of Seventh World Conference on Breeding Endangered Species Linking Zoo and Field Research to Advance Conservation. Cincinnati, Ohio, 195-205.
- González, S. y Cosse, M. 2000. Alternativas para la conservación del venado de campo en el Uruguay. In: Manejo de Fauna Silvestre en Amazonia y Latino América (Cabrera, E.; Mercoli, C. y Resquín R. Eds) Pp 205-218, Paraguay.
- González, S. y Duarte, JMB. 2002. Emergency Pampas deer capture in Uruguay. Report Wildlife Trust, 13 pp.
- González, S. y Duarte, JMB. 2003. Emergency Pampas deer capture in Uruguay. Deer Specialist Group News, Uruguay, 18:16-17
- González, S., Álvarez, F., Maldonado JE. 2002. Morphometric differentiation of the endangered Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* L. 1758) with description of new subspecies from Uruguay. Journal of Mammalogy, 83: 1127-1140.
- González, S. y Sans, C. 2009. Diagnóstico del Área Prioritaria Arerunguá. Informe presentado al Proyecto de Manejo Integral de los Recursos Naturales y la Biodiversidad – Producción Responsable-Ministerio Ganadería Agricultura y Pesca. Montevideo. 272 p.
- González, S., Cosse, M., Gross Braga, F., Vila, AR., Merino ML. 2010. PAMPAS DEER *Ozotoceros bezoarticus* (Linneus 1758. In *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*. Ed JBM Duarte, S Gonzalez, pp 119-32. Jaboticabal: Funep/IUCN

- González, S., Jackson, III, J.J. & Merino, M.L. 2016. *Ozotoceros bezoarticus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T15803A22160030. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T15803A22160030>. Downloaded on 29 August 2020.
- Hesla, Bl., Tieszen, LL., Imbamba, SK. 1982. A Systematic Survey of C₃ and C₄ Photosynthesis in the Cyperaceae of Kenya, East Africa PHOTOSYNTHETICA 16 (2): 196-205, 1982
- Hillson, S. 1986. Archaeology and the study of teeth. Endeavour. 10, 145-149. www.cambridge.org/978052183701
- Haretche, F., Mai, P., Brazeiro, A. 2012. Woody flora of Uruguay: inventory and implication within the Pampean region. Acta Bot. Bras. 26(3): 537-552.
- Hofmann, RR. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. Oecologia 78, 443-457.
- Hofmann RR, Stewart DRM. 1972. Grazer or browser: a classification based on the stomach-structure and feeding habits of East African ruminants. Mammalia 36: 226–240.
- Hofmann, RR. 1985. Digestive physiology of the deer - their morphophysiological specialisation and adaptation. In: Drew K, Fennessy P (eds) Biology of Deer Production. Roy Soc New Zeal Bull 22:393-407
- Illius, AW., Gordon, IJ., Elston, DA., Milne, JD. 1999. Diet selection in goats: a test of intake-rate maximization. Ecology 80, 1008–1018.

- Jackson, JE. 1987. *Ozotoceros bezoarticus*. Mammalian Species 295:1-5.
- Jackson JE. y Langguth, A. 1987. Ecology and status of Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Argentinian pampas and Uruguay. In: Biology and Management of the Cervidae (ed. Wemmer C), Pp. 402-409. Smithsonian Institute Press, Washington, D.C.
- Jackson, JE. y Giulietti. JD. 1988. The food habitats of Pampas Deer *Ozotoceros bezoarticus celer* in relation to its conservation in relict natural grassland in Argentina. Biological Conservation, 45: 1-10.
- Jain AK, Kheshgi HS, Caldeira K, Hoffert MI, Wuebbles DJ. 1996. Evaluation of $\delta^{13}\text{C}$ of atmospheric carbon dioxide with a schematic carbon cycle model. *American Geophysical Union Fall Meeting, EOS Supplement 75*, 152-153.
- Keeling C, Piper S, Whorf T, Keeling R, 2011. Evolution of natural and anthropogenic fluxes of atmospheric CO_2 from 1957 to 2003. *Tellus 63B*, 1-22.
- Koch, PL., Tuross, N., Fogel, ML. 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *Journal of Archaeological Sciences* 24(5), 417–429.
- MacFadden, BJ., Cerling, TE., Prado, J. 1996. Cenozoic terrestrial ecosystem evolution in Argentina; evidence from carbon isotopes of fossil mammal teeth. *Palaios* 11, 319–327.
- Menégaz, A., y Ortiz-Jaureguizar, E. 1995. Los Artiodáctilos. In M.T. Alberdi, G. Leone & E.P. Tonni (eds.): Evolución biológica y climática de la región

- pampeana durante los últimos cinco millones de años. Monografías Museo Nacional de Ciencias Naturales CSIC Madrid. 311-337.
- Merino, ML. 2003. Dieta y uso del hábitat del venado de las pampas, *Ozotoceros bezoarticus celer* Cabrera 1943 (*Mammalia-Cervidae*) en la Bahía Samborombón, Buenos Aires, Argentina. Implicancias para su conservación. PhD thesis Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata- Argentina.
- Merino ML., Vila, A., Serret, A. 1993. Relevamiento Biológico de la Bahía Samborombón, Pcia. de Buenos Aires. Fundación Vida Silvestre Argentina Boletín Técnico N0 16 :46 pp.
- Merino, ML., González, S., Leeuwenberg, F., Rodrigues, HG., Pinder, L., Tomas, WM. 1997. Veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*). In: DUARTE, J.M.B. (ed). Biología e conservação de cervídeos Sul-americanos: *Blastocerus*, *Ozotoceros* e *Mazama*. Jaboticabal, FUNEP. 238p.
- Merino, M., Vieira, R. 2010. Origin, systematics and morphological radiations. In J.M. Barbanti & S. González (eds): Neotropical Cervidology. Biology and Medicine of Latin American deer. 1: 2-11. Funep-IUCN.
- Modernel, P., Rossing, WAH., Corbeels, M., Dogliotti, S., Picasso, V., Tiftonell, P. 2016. Land use change and ecosystem service provision in Pampas and Campos grasslands of southern South America. Environmental Research Letters Environ. Res. Lett. 11 (2016) 113002 doi:10.1088/1748-9326/11/11/113002

- Moore, DE. 2001. Aspects of the behavior, ecology and conservation of the Pampas deer. Ph D thesis University of New York College of Environmental Science and Forestry, Syracuse. New York.285pp.
- Morosi, E., Ubilla, M., 2018. Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). Historical Biology 31,196-202.
- Morosi E., Ubilla M., 2019. Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). Quaternary Science Review. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>
- Morrone, JJ. 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. Monograph. Zootaxa. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3782.1.1>
<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:3640F0A6-A657-4B22-9362-E7103C8683DF>
- Mourelle, D. y Prieto, AR. 2012. Modern pollen assemblages of surface samples and their relationships to vegetation in the campos region of Uruguay. Review of Palaeobotany and Palynology 181 (2012) 22–33
- Nelson, SV. 2013. Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. Proc R Soc B 280: 20132324. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.2324>

- Newsome, SD., Yeakel, JD., Wheatley, PV., Tinker, MT. 2012. Tools for quantifying isotopic niche space and dietary variation at the individual and population level. *Journal of Mammalogy* 93:329–341.
- Parnell, AC., Phillips, DL., Bearhop, S., Semmens, BX., Warde, EJ., Moore, JW., Jackson, AL., Greyh, J., Kelly, GJ., Inger, R. 2013. Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics*. (wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/env.2221
- Pautasso, AP. y Peña, M. 2002. Estado de conocimiento actual y registros de mortalidad de *Ozotoceros bezoarticus* en la Provincia de Santa Fé, Argentina. *Deer Specialist Group News*, 17: 14-15.
- Pérez, W. y Ungerfeld, R. 2012. Gross anatomy of the stomach of the pampas deer, *Ozotoceros bezoarticus* (Artiodactyla: Cervidae). *Zoologia* ,29: 337-342.
- Peterson, B, Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematic* 18(1), 293–320.
- Pinder, L. 1997. Niche overlap among brown brocket deer, Pampas deer and cattle in the Pantanal of Brazil. PhD thesis. University of Florida.
- Politis G. 2008. The Handbook of South American Archaeology - The Pampas and Campos of South America 235-260. DOI:10.1007/978-0-387-74907-5_14.
- Politis, G., Prates, L., Merino, ML., Tognelli, MF. 2011. Distribution parameters of guanaco (*Lama guanicoe*), pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Central Argentina: Archaeological

and paleoenvironmental implications Journal of Archaeological Science 1355-1366

Putman, R. 1988. The natural history of deer. Ithaca, Comstock. 191 p.

R Core Team, 2019. R: A language and environment 656 for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. SIAR and SIBER packages. 2019. <http://www.r-project.org/>.

Rodrigues, FHG., 1996. História natural e biología comportamental do Veado-campeiro no Parque Nacional das Emas. In: XIV Encontro Anual de Etologia: 223-231. Uberlândia.

Rodrigues, FHG. y Monteiro Filho, ELA. 1999. Feeding behavior of the Pampas Deer: a grazer or a browser? Deer Specialist Group News, 15: 12-13.

Rodrigues, FHG., Silveira, L., Jacomo, AT., Monteiro Filho, ELA. 1999. Um Albino parcial de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*, L.) no Parque Nacional das Emas, Goiás. Revta. Bras. Zool. 16 (4): 1229-1232.

Schell, DM. 2001. Carbon isotope ratio variations in Bering Sea biota: The role of anthropogenic carbon dioxide. Limnology and Oceanography 46: 999–1000

Scheifler, NA., Merino, ML., Vitale, P., Kaufmann, CA., Messineo, PG., Álvarez MC., Bocherens, H. 2020. Isotopic Ecology in Modern and Holocene Populations of Pampas Deer (*Ozotoceros bezoarticus*) from Eastern Central Argentina. Implications for Conservation Biology and Ecological Models of Hunter-gatherer Subsistence. Environmental Archaeology DOI: 10.1080/14614103.2020.1846451

- Sharma, S., Joachimski, M., Sharma, HJ. Tobschalla, IB. Singh, C., Sharma, MS., Chauhan, G. Morgenro, G. 2004. Late glacial and Holocene environmental changes in Ganga plain, Northern India. *Quaternary Science Review* 23 145-159 DOI: 10.1016/j.quascirev.2003.10.005
- Smith BN y Epstein S. 1971. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiol.* 47:380-84
- Sturm, M. 2001. Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) Habitat Vegetation Analysis and Deer Habitat Utilization Salto, Uruguay Ph D thesis University of New York College of Environmental Science and Forestry, Syracuse. New York. 109 pp.
- Ubilla, M., Corona, A., Rinderknecht, A., Perea, D., Verde, M., 2016. Marine isotope stage 3 (MIS 3) and continental beds from northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini, G., Rabassa, J., Deschamps, M., Tonni, E. (Eds.), *Marine Isotope Stage 3 in Southern South America*, 60 Ka BP-30 Ka BP. Serie Springer Earth System Sciences, pp. 183e205
- Ungerfeld, R., González Pensado, S., Bielli, A., Pérez; W. 2008. Reproductive biology of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*): A review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50. DOI: 10.1186/1751-0147-50-16

- Van der Merwe, NJ. y Medina, E. 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53(5), 1091–1094.
- Van der Merwe, NJ., Medina, E. 1991. The Canopy Effect, Carbon Isotope Ratios and Foodwebs in Amazonia. *Journal of Archaeological Science* 18, 249-259.
- Vezzosi, RI. 2011. Primer registro de *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758) (Artiodactyla: Cervidae) en el Pleistoceno del centro de la provincia de Santa Fe, Argentina. In: J. Calvo; J. Porfiri; B. González Riga & D. Dos Santos (eds) *Paleontología y dinosaurios desde América Latina*, Universidad Nacional de Cuyo, p. 235–244.
- Vila, AR. y Beade, MS. 1997. Situación de la población del venado de las pampas en la Bahía Samborombón. *Boletín Técnico* N ° 37 FVSA, Buenos Aires, 30 pág.
- Waller, SS. y Lewis, JK. 1978. Occurrence of C 3 and C 4 Photosynthetic Pathways in North American Grasses. *Journal of Range Management*.
- Wang, Y. y Cerling, T. 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 107 (1994): 281-289
- Webb SD. 2000. Evolutionary history of new world deer. In: Vrba, E.S., 748 Shaller, G.B.(Eds.), *Antelopes, Deer, and Relatives*. Yale University 749 Press, London, pp. 38–64.

- Weber, M. y González, S. 2003. Latin American deer diversity and conservation: a review of status and distribution. *Ecoscience* 10(4): 443-454.
- Witt, GB. y Ayliffe, LK. 2001. Carbon isotope variability in the bone collagen of red kangaroos (*Macropus rufus*) is age dependent: implications for palaeodietary studies. *J. Archaeol. Sci.* 28, 247e252.
- Whitaker JM. 2010 "Diet Reconstruction of Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) Using Stable Isotopes". 2010. All Theses and Dissertations. 2328. <https://scholarsarchive.byu.edu/etd/2328>
- Whitehead, GK. 1972. Deer of the world. Constable, London, 194pp.
- Wright LE, Schwarcz HP. 1998. Stable carbon and oxygen isotopes in human tooth enamel: identifying breastfeeding and weaning in prehistory. *Am. J. Phys. Anthropol.* 106 (1): 1-18.

Material suplementario

Inferencias dietarias en *Ozotoceros bezoarticus arerunguaensis* y *O. b. uruguayensis* mediante isotopía estable.

ANOVA

Tabla 1: Valores isotópicos de *O. b. arerunguaensis* de la CB., Salto y *O. b. uruguayensis* de la CLM., Rocha

SIL ID	External ID	$\delta^{13}\text{C}$ Suess	Eco/Depto	Country
G-1304152	MNHN 693	-10,14	CB. Salto	UY (N)
C-1500166	SG 1006 - H*	-5,84	CB. Salto	UY (N)
G-1304153	SG 1014	-5,32	CB. Salto	UY (N)
C-1500160	SG 48 - J*	-5,36	CB. Salto	UY (N)
C-1500161	SG 63 - H*	-4,84	CB. Salto	UY (N)
C-1400202	ZVCM1309	-7,53	CB. Salto	UY (N)
C-1400200	ZVCM1495	-8,13	CB. Salto	UY (N)
C-1400199	ZVCM1497	-8,88	CB. Salto	UY (N)
C-1400201	ZVCM1739	-7,39	CB. Salto	UY (N)
G-1304148	SG 1070	-11,96	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500162	SG 1082 - H*	-13,13	CLM. Rocha	UY (SE)
G-1304149	SG 1083	-12,74	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500159	SG 1084 - H*	-10,98	CLM. Rocha	UY (SE)
G-1304147	SG 1087	-11,61	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500163	SG 1089 - H*	-11,72	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500164	SG 13 - J*	-13,99	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1500165	SG 59 - J*	-13,20	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1400205	SG1061	-7,24	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1400203	SG1101	-11,08	CLM. Rocha	UY (SE)
C-1400204	SG139	-12,97	CLM. Rocha	UY (SE)

Tabla 2: valores isotópicos de *O. b. celer* de la Provincia de Corrientes y *O. b. leucogaster* de la Provincia de Buenos Aires.

SIL ID	External ID	$\delta^{13}\text{C}$ Suess	Department	Country
C-1400214	MACN 24523	-7,45	Corrientes	AR (NE)
C-1400215	MACN 24749	-13,57	Corrientes	AR (NE)
C-1400213	MACN 49183	-12,26	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400208	MLP 1341	-11,93	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400209	MLP 18,VIII,92,15	-6,94	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400207	MLP 18,VIII,92,2	-10,46	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400211	MLP 18,VIII,92,7	-11,47	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400206	MLP 18,VIII,92,9	-11,42	Buenos Aires	AR (SE)
C-1400210	MLP19,VI,00,2	-9,35	Buenos Aires	AR (SE)

<i>O. b. arerunguaensis</i>	-10,14	-5,84	-5,32	-5,36	-4,84	-7,53	-8,13	-8,88	-7,39		
<i>O.b. uruguayensis</i>	-11,96	-13,13	-12,74	-10,98	-11,61	-11,72	-13,99	-13,20	-7,24	-11,08	-12,97

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
<i>O. b. arerunguaensis</i>	9	-63,43	-7,0477778	3,32581944
<i>O.b. uruguayensis</i>	11	130,605	-11,873182	3,27722636

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	115,2584	1	115,258	34,939	1E-05	4,414
Dentro de los grupos	59,37882	18	3,29882			
Total	174,6372	19				

H0 ambos son iguales

H1 Son diferentes

F es mayor que valor critico para F, por lo tanto, acepto H1

O. b. arerunguaensis y *O. b. uruguayensis* son diferentes

<i>O. b. arerunguaensis</i>	-10,14	-5,84	-5,32	-5,36	-4,84	-7,53	-8,13	-8,88	-7,39		
<i>O.b. uruguayensis</i>	-11,96	-13,13	-12,74	-10,98	-11,61	-11,72	-13,99	-13,20	-7,24	-11,08	-12,97
<i>O.b. celer</i>	-12,26	-11,93	-6,94	-10,46	-11,47	-11,42	-9,35				
<i>O.b. leucogaster</i>	-7,45	-13,57									

Análisis de varianza de
un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
<i>O. b. arerunguaensis</i>	9	-63,43	-7,0477778	3,32581944
<i>O.b. uruguayensis</i>	11	-130,605	-11,873182	3,27722636
<i>O.b. celer</i>	7	-73,83	-10,547143	3,48532381
<i>O.b. leucogaster</i>	2	-21,02	-10,51	18,7272

ANÁLISIS DE VARIANZA

		N-1			P valor	
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	119,6103431	3	39,87011437	10,06638431	0,000156856	2,99124091
Dentro de los grupos	99,01796205	25	3,960718482			
Total	218,6283052	28				

HO TODOS SON IGUALES

H1 POR LO MENOS 2 SON DIFERENTES

F es mayor que valor critico para F por lo tanto, acepto H1, por lo menos dos son diferentes

<i>O.b. uruguayensis</i>	-11,96	-13,13	-12,74	-10,98	-11,61	-11,72	-13,99	-13,20	-7,24	-11,08	-12,97
<i>O.b. celer</i>	-12,26	-11,93	-6,94	-10,46	-11,47	-11,42	-9,35				

Análisis de
varianza de un
factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
		-		
<i>O.b. uruguayensis</i>	11	130,605	-11,87318182	3,277226364
<i>O.b. celer</i>	7	-73,83	-10,54714286	3,48532381

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	7,521956006	1	7,521956006	2,241838037	0,153788039	4,493998478
Dentro de los grupos	53,68420649	16	3,355262906			
Total	61,2061625	17				

HO ambos son iguales

H1 son diferentes

F es menor que valor critico para F, por lo tanto, acepto Ho.

O.b. uruguayensis* es igual a *O.b. celer

<i>O.b. uruguayensis</i>	-11,96	-13,13	-12,74	-10,98	-11,61	-11,72	-13,99	-13,20	-7,24	-11,08	-12,97
<i>O.b. leucogaster</i>	-7,45	-13,57									

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
<i>O.b. uruguayensis</i>	11	-130,605	11,87318182	3,277226364
<i>O.b. leucogaster</i>	2	-21,02	-10,51	18,7272

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3,144755594	1	3,144755594	0,671702365	0,429859053	4,844335675
Dentro de los grupos	51,49946364	11	4,681769421			
Total	54,64421923	12				
H0	ambos son iguales					
H1	son diferentes					

F es menor que valor critico para F, por lo tanto, acepto H0. Son iguales
***O.b. uruguayensis* y *O.b. leucogaster* son similares**

Luego de haber comparado *O.b. uruguayensis* y *O.b. arerunguensis*, el análisis comprueba que son diferentes.

Luego se compara *O.b. uruguayensis* con *O.b. celer* y *O.b. leucogastes*, el análisis indica que los tres son similares entre si

Por lo tanto, de acuerdo a los resultados de ANOVA *O.b. gouazoubira*, *O.b. leucogaster* y *O.b. celer* son iguales y el que es diferente es *O.b. ararerunguensis*

CAPÍTULO 6

Inferencia dietaria y ambientes asociados de cérvidos fósiles de la Formación Sopas (Pleistoceno tardío), Uruguay.

1. Introducción

El lugar de origen de la familia Cervidae habría sido Eurasia y desde allí a través del Estrecho de Bering, habrían entrado a Norte América en el Plioceno temprano (Merino y Vieira Rossi, 2001).

En el Plio-Pleistoceno emergió el istmo en América Central (ca. 2.5 Ma), generando una conexión terrestre entre Norte América, Central y Sudamérica (SA) (Chimento et al., 2019 y referencias incluidas), lo que facilitó el ingreso de los linajes a Sudamérica (SA) durante el “Gran Intercambio Biótico Americano” (GABI) (Cione et al., 2015; Merino y Vieira Rossi, 2001).

Desde su entrada en SA, los cérvidos radiaron rápidamente en el Neotrópico y tuvieron una amplia diversificación, lo cual ha llevado a reconocer varios géneros y especies, muchas de las cuales han sobrevivido hasta el presente (Chimento et al., 2019).

Los ciervos se adaptaron a un amplio rango de hábitats y se pueden distinguir entre los que habitan bosques con o sin dosel, (*Mazama*, *Pudu*), de aquellos que prefieren los ambientes abiertos de pradera o sabana (*Ozotoceros*, *Blastocerus*) y por ultimo los que son adaptables y pueden ocupar una gran diversidad de ambientes (*Ozotoceros bezoarticus*, *Odocoileus virginianus*), incluidos distintos tipos de cultivos (Merino y Vieira Rossi, 2001).

La sistemática tradicional de los taxones de ciervos fósiles se ha basado mayormente en la morfología de las cornamentas, estructuras que poseen una forma y tamaño variable respecto al desarrollo ontogenético y otros aspectos intraespecíficos (Carette, 1922; Castellanos, 1924; Cabrera, 1943). En base a las características morfológicas de las astas, se han reconocido diversos representantes extintos de esta familia, ya que los restos de astas son bastante frecuentes en los depósitos cuaternarios (Chimento et al., 2019)

En la Formación Sopas, aproximadamente el 20 % de los hallazgos fósiles corresponden a cérvidos, entre los que se encuentran distintas especies (Ubilla et al., 2016). Aquí analizaremos especímenes asignados al género *Morenelaphus* Carette, 1922, a las especies *Morenelaphus brachyceros* (Gervais y Ameghino, 1880) y *Paraceros fragilis* (Ameghino, 1888), extintos en el Pleistoceno tardío y material referido a *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758), especie que actualmente vive en Uruguay (Cosse y González, 2013).

En relación a otros ciervos como *Antifer ultra* (Ameghino, 1889) y *Mazama* sp. Rafinesque, 1817, se han encontrado mayormente cornamentas y fragmentos de cornamentas (Ubilla, 1996), por lo que no se han incluido en este estudio.

El género †*Morenelaphus*, tenía de tamaño medio con astas largas y se reconocen dos especies: *M. brachyceros* y *M. lujanensis* (Ameghino, 1888). Se diferencian entre sí, de acuerdo a la clasificación clásica, por detalles morfológicos de las astas (Menegaz and Ortiz Jaureguizar, 1995). El género *Morenelaphus* tiene el registro fósil más abundante y la distribución geográfica más amplia entre los ciervos extintos en Sudamérica. Durante el Pleistoceno medio y tardío se lo encuentra esencialmente en: Argentina, Paraguay, Brasil y Uruguay (Merino y Rossi, 2001, Valli, 2018; Rotti, et al., 2018). Si bien existe un amplio registro fósil, hay poca información de su paleoecología, en especial del tipo de dieta (Rotti et al 2018; Tomassini et al., 2020), aunque Menegaz y Ortiz Jaureguizar (1995), han postulado que ocuparía ambientes de praderas o sabanas con pocos árboles o arbustos.

De acuerdo a Castellanos (1924), el género †*Paraceros* fue establecido por Ameghino en 1889, solo con un asta de 40 cm. de largo, de la única especie que tiene el género, *Paraceros fragilis*. Esta era muy delgada, casi cilíndrica, con pequeños surcos longitudinales poco marcados, curvada como una elipse, con tres candiles laterales de un mismo lado y uno o dos candiles opuestos, que nacen más arriba y la garceta es basal terminada dicotómicamente. Probablemente era un ciervo de mediano tamaño cuando adulto. Según algunos estudios, podría

alcanzar el metro de altura y tener unos 50 kg de peso (Castellanos, 1924; Chimento et al., 2019).

Existe poca información sobre *Paraceros fragilis*, ya que sus fósiles son escasos y hay pocos registros. En Uruguay se han descripto para la Formación Sopas, donde se encontraron los restos fósiles de un grupo de cuatro individuos, de diferentes edades ontogenéticas (Ubilla, 1996). En Argentina se han encontrado en la Provincia de Buenos Aires (en el Piso/Edad Bonaerense), en la Provincia de Santa Fe y en San Pedro (Argentina) se encontró un cráneo casi completo (Chimento et al, 2019).

El venado de campo u *Ozotoceros bezoarticus*, es un cérvido de tamaño mediano, que pesa entre 20 y 40 kg., con una altura de 70-75 cm y que muestra una amplia variación en el tamaño corporal, tanto entre individuos como entre poblaciones (Capítulo 5 y referencias incluidas). Actualmente se lo encuentra en praderas o sabanas y evita de ser posible bosques con o sin dosel. El registro fósil del venado de campo en general es escaso, en Uruguay han sido referidos pocos especímenes para la Formación Sopas (Ubilla et al., 2016).

2. Objetivos

- Utilizar los isótopos estables de carbono y oxígeno como proxies, para inferir estrategias alimenticias y ambientes asociados de los cérvidos fósiles de la Formación Sopas, utilizando la línea de base isotópica generada con los datos de la flora del norte del país y calibrada con ejemplares modernos de *O. bezoarticus* y *M. gouazoubira*.
- Comparar las estrategias alimenticias, de las distintas especies de ciervos entre sí.
- Comparar los tipos de dieta, tomando en consideración el lugar de procedencia.

3. Marco geológico y paleontológico

La Formación Sopas, es una unidad sedimentaria del Pleistoceno tardío (que se encuentra localizada en el norte de Uruguay, en los departamentos de Tacuarembó, Salto, Río Negro, Paysandú y Artigas) (Fig. 1). Comprende conglomerados, areniscas y limo depositados en contextos de agua dulce, incluyendo sedimentos de llanuras fluviales y paleosuelos (Ubilla y Martínez, 2016

y referencias incluidas), en los que se encuentran bioturbaciones, como ser rastros, nidos y cuevas. (Ubilla et al., 2016; Verde et.al., 2007).

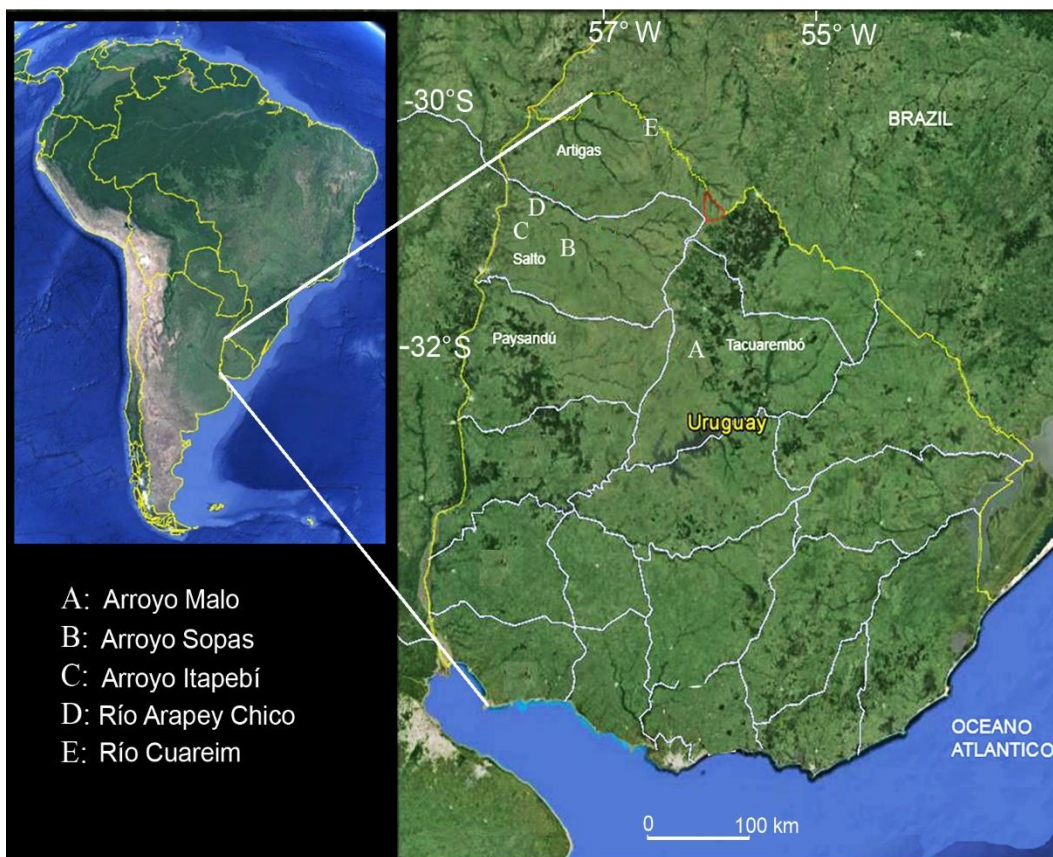


Figura 1. Mapa con las localidades de los sitios fosilíferos en el norte de Uruguay, donde fueron colectados los especímenes de ciervos de los que se tomaron muestras para análisis isotópicos.

Esta unidad, se caracteriza por tener una fauna diversa representada por fósiles de cuerpo, compuesta mayormente por vertebrados, moluscos de agua dulce y restos de maderas, los que están relacionados con una variada gama de hábitats (Ubilla et al., 2004, 2016; Morosi and Ubilla, 2018).

El grupo dominante entre los fósiles de cuerpo, son los vertebrados y entre ellos, los mamíferos son los que se encuentran en mayor proporción, con más de 50 especies (Manzueti et al., 2018; Ubilla et al., 2004, 2016).

Análisis de AMS 14C y OSL (Luminiscencia ópticamente estimulada) previamente realizados reportan edades entre 60 y 25 Ka, las que se encuentran en el MIS-3 y de ca. 12 ka., para algunos escasos afloramientos (Ubilla et al., 2016).

4. Estrategias de alimentación

La estructura del tracto digestivo está íntimamente ligada al tipo de alimentos que consumen, cómo lo adquieren y es un claro indicador de las estrategias alimenticias (Hofmann, 1973, 1989).

El aparato digestivo de los cérvidos (rumiantes), tiene adaptaciones que incrementan la eficacia digestiva, en el procesamiento de plantas con alto contenido de celulosa y lignina, lo que los provee de ventajas ecológicas si se los compara con otros animales que tienen una dieta especializada, como son los hiper-pastadores o hiper-ramoneadores (Hofmann, 1989).

Estas adaptaciones, pudieron haber evolucionado a partir de diferentes estrategias de alimentación y como resultado de la interacción de varios factores, tanto intrínsecos (morfología dental, fisiología del aparato digestivo, cambios comportamentales, etc.), como extrínsecos. Entre estos últimos, se encuentra la

distribución temporal y espacial de la vegetación y las rutas fotosintéticas de las plantas (Illius and Gordon, 1993). Estos cambios permitieron maximizar la eficiencia de los recursos disponibles (Putman, 1988; Merino y Vieira Rossi, 2001), ya que la mayoría de las especies de cérvidos, tienen hábitos alimenticios mixtos (Solounias and Semprebon, 2002; Rotti et al., 2018)

Existen diferentes tipos de clasificaciones de las dietas herbívoras, entre las que encontramos:

a) La que se basa en el tipo de plantas consumidas (Hoffman, 1973):

- pastadores, cuya dieta contienen mas de un 75 % de gramíneas C₄ y menos de un 25 % de ramoneado C₃ (partes de árboles y arbustos).
- ramoneadores, presentan una dieta compuesta por más de un 75 % de dicotiledóneas, frutos, ramas y brotes, flores de árboles y arbustos
- intermedios o mixtos, son los que seleccionan tanto pastos como partes de árboles y arbustos.

b) la que se basa en separar a los mamíferos herbívoros tomando en consideración no solo las preferencias alimenticias, sino también la morfología y flora bacteriana del tracto digestivo (Hofmann,1973, 1989; Hofmann and Stewart,1972), a los que se designan como:

- selectores-concentradores, son los que tienen un aparato digestivo relativamente simple, con un rumen y omaso pequeño y un intestino corto. Se comportan de manera oportunista respecto de las especies consumidas y por otro

lado son especialistas en el consumo de las porciones más nutritivas de las plantas, como son los brotes, flores, frutos y pastos tiernos con alto contenido energético.

- los consumidores de forraje a granel (bulk feeders), tienen un estomago grande para la fermentación de los alimentos y se caracterizan por la poca selectividad y alta eficiencia en la digestión de celulosa y fibras.

- los tipos intermedios, reúnen a los rumiantes con tractos digestivos de tamaño intermedio y que consumen alimentos seleccionados de forma oportunista, basado no tanto en el tipo de plantas, sino en su oferta y estado fenológico.

5. Marco isotópico

En los últimos años, el uso de isótopos estables se ha incrementado en mamíferos sudamericanos pleistocénicos (MacFadden et al., 1999; Domingo et al. 2019; Dantas et al., 2013, entre otros), lo que ha contribuido a entender la paleoecología de algunas de las especies extintas, las preferencias alimenticias y el ambiente asociado (Bernardes et al., 2013; de Melo Franca et al. 2014; MacFadden et al., 1996; Pérez Crespo et al., 2018; Prado et al., 2011; Prado y Alberdi, 2017, entre otros). En este periodo, los isótopos de carbono han demostrado ser una herramienta útil en los estudios de dieta, ya que las diferentes vías fotosintéticas imparten diferentes proporciones de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}$), debido a un

proceso llamado fraccionamiento que ocurre en los tejidos fotosintéticos de las plantas (Bender, 1971).

En el estudio de los cérvidos fósiles, utilizaremos una clasificación distinta a las previamente descritas, ésta se encuentra basada en las características isotópica de los productores (plantas) y de los consumidores (herbívoros).

Los pastos tropicales y los juncos que utilizan la ruta de Hatch-Slack (vía fotosintética C_4), se encuentran relativamente enriquecidos en el isótopo de carbono pesado (^{13}C) y tienen un rango de $\delta^{13}C$, que van desde -21.0 hasta -9.0 ‰, con una media de -14.0 ‰ (Ehleringer et al., 1986, 1991; Cerling et al., 1997; O'Leary, 1988). Por otra parte, las plantas que emplean la vía del ciclo de Calvin para la fijación del carbono (vía fotosintética C_3), incluye a la mayoría de los árboles y arbustos, así como los pastos que crecen en regiones con inviernos templados, están relativamente disminuidas en ^{13}C y típicamente van desde -35.0 a -22.0 ‰, con una media de -28.0 ‰ (Ehleringer et al., 1986, 1991; Cerling et al., 1997; Cerling and Harris, 1999; O'Leary, 1988).

Hay una tercera vía fotosintética, llamada CAM ("crassulacean acid metabolism"), que es una adaptación a los ambientes áridos, pero no se ha reportado que los cérvidos las utilicen como fuente de alimentación (Ehleringer et al. 1991).

Como resultado, las diferencias isotópicas de las plantas, proporcionan un sistema de marcadores naturales para rastrear las dietas herbívoras (Ambrose and DeNiro, 1986; van der Merwe and Medina, 1989), donde la composición isotópica

de las plantas, se traslada a los consumidores (Ambrose and DeNiro, 1986; Cerling et al., 1997; van der Merwe and Medina, 1991). Además, es posible identificar entre los mamíferos herbívoros, a los pastadores C_4 con diferentes sub-rutas fotosintéticas (NAD o NADP) y distinguir aquellos cuya dieta C_3 se deriva de pastos C_3 , bosques con o sin dosel (Bocherens and Drucker, 2013; Cerling and Harris, 1999).

Los valores de $\delta^{13}C$ y $\delta^{18}O$, relativamente disminuidos indican que las plantas crecieron a nivel del piso o en estratos inferiores de bosques o zonas forestadas, donde tienen un menor recambio de CO_2 y luz solar (Druker et al., 2008). Mientras que valores de $\delta^{13}C$ y $\delta^{18}O$ relativamente enriquecidos, indican que las plantas crecieron en hábitats abiertos, como son las praderas, sabanas o en los estratos superiores del dosel. En los ambientes con estrés solar y evaporativo, las plantas tienden a ser mas eficientes en el uso del agua y funcionar con menores niveles de respiración, pero al mismo tiempo seguir absorbiendo CO_2 para el crecimiento, lo que lleva a un proceso de enriquecimiento de ^{13}C (Van der Merwe and Medina, 1991; Bocherens and Drucker, 2013; Nelson, 2013).

5.1. El efecto Suess

En los últimos trescientos años aproximadamente, el cambio del uso de la tierra, la industrialización y la quema de combustibles fósiles, ha emitido CO_2 antropogénico, el que se encuentra fuertemente empobrecido en su composición $^{13}C/^{12}C$ ($\delta^{13}C$). Al mezclarse con el CO_2 atmosférico, produce un cambio

mensurable de los valores atmosféricos de $\delta^{13}\text{C}$, lo que ha dado a llamarse “efecto Suess” (Francey et al., 1995; Friedli et al., 1986; Keeling et al., 1979; Körtzinger et al., 2003).

El efecto Suess, ha disminuido el $\delta^{13}\text{C}$ de los valores atmosféricos de CO_2 en aproximadamente -1.5 ‰, de -6.5 ‰ en la era preindustrial a -8.0 ‰ al año 2000 A.D. (Keeling et al., 2011). Esta disminución en el $\delta^{13}\text{C}$ afecta a casi todos los organismos vivos, por lo que se corrige agregándole +1.5 ‰ en el eje x de la gráfica, para resultados isotópicos pertenecientes a ejemplares fósiles o arqueológicos, de esta forma se compensa el $\delta^{13}\text{C}$ antropogénico en la atmosfera, a valores preindustriales (Cerling and Harris, 1999; Friedli et al., 1986; Tiezen, 1999).

Por lo que, en los mamíferos los valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre:

- -20.5 y -13.0 ‰, indican una alimentación C_3 , en ambiente boscoso con dosel (Fenerac, 2008; Nelson, 2013; Van der Merwe and Medina, 1989).
- -13.0 y +1.0 ‰ representan valores isotópicos de dieta mixta con diferentes proporciones de C_3 y C_4 en la misma.
- $>+1$ reflejan valores de dieta pastadoras C_4 exclusivas (MacFadden y Cerling, 1996; Cerling and Harris, 1999; Cerling et al., 2004).

6. Materiales y métodos

6.1. Materiales

Abreviaciones: FC-DPV: Colección Paleontológica (Vertebrados Fósiles) de la Facultad de Ciencias (Montevideo); MHD-P: Museo Histórico Departamental-Paleontología (Artigas); C: Colección Ghizzoni (Salto). IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry. IAEA: International Atomic Energy Agency.

Se seleccionaron 31 ejemplares para ser analizados: 1 *Morenelaphus brachyceros*; 6 *Morenelaphus* sp.; 1 *Ozotoceros cf. bezoarticus*; 2 *Paraceros fragilis* y 21 Cervidae indet., que fueran adecuados para realizar estudios isotópicos (Tabla 1).

En la selección se evaluó: que los ejemplares fueran adultos, que los dientes se encontraran en buen estado de conservación y sin alteraciones diagenéticas (costras de carbonato o hierro).

El set de especímenes referidos a Cervidae indet., se debe a que se muestrearon materiales en que no fue posible una clasificación más detallada, en especial por no estar asociados a cornamentas. De todos modos, se considera importante observar e interpretar la señal isotópica que se obtiene del conjunto.

Con los cérvidos indet es donde tenemos una mayor dispersión de los datos, con importantes variaciones en la composición de la dieta, siendo posible que algunos de esos ejemplares que no se pudieron determinar a nivel genérico o específico, pertenezcan a las especies identificadas para la unidad sedimentaria.

Nº catálogo	Localidad	Taxón	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{18}\text{O}$
MHD - P 342-45 B	Artigas Piedra Pintada, R. Cuareim	<i>Paraceros fragilis</i>	-8,20	-3,24
MHD - P 342-60 A	Artigas Piedra Pintada, R. Cuareim	<i>Paraceros fragilis</i>	-8,62	-2,01
MHD - P 138 A	Artigas Piedra Pintada, R. Cuareim	<i>Ozotoceros cf. bezoarticus</i>	-9,21	-3,04
MHD - P 361 A	Artigas	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-6,47	-0,80
MHD - P 263 A	Artigas	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-9,23	-4,58
FC-DPV 2558 A	Salto, Arroyo Sopas	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-8,95	0,93
FC-DPV 2780 A	Tbó, Arroyo Malo, Curtina	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-7,69	0,30
FC-DPV 2914 A	Tbó, Arroyo Malo, Lavié II	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-9,65	-0,61
FC-DPV 730 A	Tbó, Arroyo Malo, Curtina, Lavié	<i>Morenelaphus</i> sp-.	-8,76	-1,01
MHD - P 139 A	Artigas, Pintado. Rio Cuareim	<i>M. brachyceros</i>	-6,88	-2,77
FC-DPV 757 A	Tbó, Arroyo Malo, Curtina, Lavié	Cervidae	-10,88	-1,26
FC-DPV 756 A	Tbó, Arroyo Malo, Curtina	Cervidae	-9,62	0,06
MHD - P 453 A	Artigas	Cervidae	-7,52	-0,52
MHD - P 503 A	Artigas	Cervidae	-8,55	-1,96
FC-DPV 2796 A	Salto, Arapey Chico, P. Buey negro	Cervidae	-12,38	-0,75
FC-DPV 1039 A	Salto, Paso del Potrero	Cervidae	-8,20	-2,85
FC-DPV 850 A	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-7,08	-0,72
FC-DPV 2436 A	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-9,69	-0,91
FC-DPV 2435 A	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-10,31	-2,06
FC-DPV 2440 B	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-11,22	-2,45
FC-DPV 2432 A	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-8,37	-2,49
FC-DPV 2431 A	Tbó, Arroyo Malo	Cervidae	-9,82	-2,92
FC-DPV 2548 B	Tbó, Arroyo Malo, Curtina	Cervidae	-4,01	1,07
C 32-5 A	Salto	Cervidae	-7,92	1,10
C 52 - 2 A	Salto	Cervidae	-10,20	0,05
C 24 - 7 B	Salto	Cervidae	-11,49	-0,20
C 50 - 6 B	Salto	Cervidae	-6,84	-1,00
C 7 - 1 B	Salto	Cervidae	-7,280	-2,94
FC-DPV 571 A	Salto, Arroyo Itapebí	Cervidae	-9,83	-2,29
FC-DPV 550 B	Tbó, Arroyo Malo, Curtina, Lavié	Cervidae	-10,74	-3,90
FC-DPV 1154 A	Tbó, Arroyo Malo, Lavié II	Cervidae	-10,30	-2,31

Tabla 1. Listado de cérvidos analizados. Se muestra número de catálogo, procedencia, taxon y valores isotópicos. Tbó: Tacuarembó

6.2. Métodos

Toda la metodología utilizada para la toma de muestras, pretratamientos, análisis isotópicos y cuantitativos, se encuentra desarrollada en detalle en el capítulo 7 (Morosi y Ubilla, 2019) y Capítulo 9 (Morosi y Ubilla, 2018).

Como nuestro objetivo, es reconocer la dieta en su totalidad en especímenes adultos, se dio preferencia en muestrear el tercer molar (M3 o m3), debido a que, en los cérvidos, están entre los últimos en desarrollarse, mineralizar y erupcionar (Hillson, 1986).

El método general para coleccionar muestras de esmalte dental a granel (bulk samples) sigue a Koch et al. (1997) y Balasse (2003), con cambios menores (Morosi y Ubilla, 2018, en Capítulo 9).

Se tomaron las muestras a granel, comenzando en la corona y se continuo a lo largo de la superficie no oclusal paralela al eje de crecimiento con un torno manual de baja velocidad y puntas de metal. Se pesaron 50 mg y se homogeneizaron en un mortero de ágata. Las muestras preparadas de esta forma, tienen una señal isotópica promedio de todo el periodo de crecimiento del diente y se evitan los sesgos producidos, por diferencias estacionales que puedan influir en los resultados isotópicos (ver Capítulo 9 por más detalles).

El pretratamiento para remover contaminantes orgánicos y carbonatos previamente absorbidos, así como los análisis isotópicos se realizaron durante una

pasantía en el Stable Isotope Laboratory (SIL) de la University of East Anglia (UEA) en Inglaterra, siguiendo los protocolos previamente establecidos por el Laboratorio (Ver capítulos 7 y 9).

Se analizaron alícuotas de 0.7 mg del esmalte en un Isotope Ratio Mass Spectrometer (IRMS) con un carousel automatizado y en interfase con un analizador elemental. Las proporciones isotópicas de carbono y oxígeno del CO₂ de la hidroxiapatita se indican en notación estándar (δ), como $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ y se calculan en unidades de por mil (‰), las que se relacionan con escalas internacionales (Peterson y Fry, 1987). Los resultados se informan en relación con el estándar isotópico, usando la notación δ :

$$\delta^{13}\text{C} \text{ o } \delta^{18}\text{O} = (R \text{ muestra} / R \text{ estándar} - 1) \times 1000$$

donde R muestra y R estándar son las proporciones $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ y $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, de la muestra y el estándar respectivamente, relativo al carbonato estándar internacional Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB).

La corrección por Efecto Suess se realizó directamente en los datos isotópicos de las plantas (Tabla 2 y 3), entre otras cosas, para que se pudieran comparar con datos de ejemplares fósiles o arqueológicos. Brevemente, se obtuvieron los promedios de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de la flora autóctona a nivel de género o especie (cuando fue posible), pertenecientes a la eco-región de la Cuesta Basáltica

(CB) en el norte de Uruguay (Brazeiro et al., 2012) y se le sumo el fraccionamiento isotópico de 14.1 ± 0.5 ‰, entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de la dieta y los del esmalte dental para mamíferos silvestres (>5 kg), propuesto por Cerling y Harris, (1999).

Con estos valores isotópicos, se infirieron las estrategias alimenticias de *Mazama gouazoubira* (ramoneador C_3 en áreas boscosas con dosel) y *Ozotoceros bezoarticus* (dieta mixta C_3 - C_4 , en la que varía la proporción de la misma adaptándose a las condiciones del entorno). Estos resultados fueron validados por otros medios no isotópicos (Capítulo 4 y 5).

Los análisis cuantitativos fueron llevados a cabo con el programa Excel (2019) y para correr los modelos mixtos bayesianos (Hair et al., 2010; Phillips, 2012) se utilizaron, el programa R (Parnell et al., 2010), R Core Team, 2019 (<http://www.R-project.org/>) y los paquetes SIAR y SIBER (Stable isotope analysis in R. Available from: <https://cran.r-project.org/>), con los que se analizaron los datos en un modelo de dos presas, plantas C_3 y plantas C_4 (Capítulo 7, para una explicación más completa).

7. Resultados

7.1. Línea de isotópica de base y corrección por efecto Suess.

En la línea isotópica de base, que se generó con datos de la flora actual de la CB en el norte de Uruguay, el promedio de $\delta^{13}\text{C}$ para las plantas C_3 fue de -27.1 ‰ y para las plantas C_4 de -13.4 ‰ (Tabla 2 y 3). Hay que tomar en consideración,

que estos valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las plantas ya fueron corregidos por efecto Suess, para que fueran comparables con los datos de ejemplares fósiles.

Encontramos que estos valores, luego de la corrección, son similares a los obtenidos por otros autores en otras partes del mundo (vide supra).

Taxon	Forma de vida	Fecha de colecta	Corrección por Efecto Suess		
			$\delta^{13}\text{C}$ Media	Corrección	$\delta^{13}\text{C}_{\text{Suess}}$
<i>ACANTHACEAE</i>	s	1982	-29,09	1,30	-27,79
<i>ADOXACEAE</i>	s/t	2005	-26,20	1,88	-24,33
<i>ANACARDIACEAE</i>	s/t	1998*	-32,20	1,70	-30,50
<i>ANNONACEAE</i>	s/t	1982	-29,59	1,30	-28,29
<i>APOCYNACEAE</i>	t	1996*	-31,70	1,65	-30,05
<i>AQUIFOLIACEAE</i>	t	1997*	-20,55	1,68	-18,88
<i>ARECACEAE</i>	s/t	1982	-27,74	1,30	-26,44
<i>ASTERACEAE</i>	s/t	1991*	-30,00	1,53	-28,47
<i>BERBERIDACEAE</i>	s	2008	-26,15	1,95	-24,20
<i>BIGNONIACEAE</i>	t	1982	-31,00	1,30	-29,70
<i>BLECHNACEAE</i>	s-fern	2006*	-33,76	1,90	-31,86
<i>BORAGINACEAE</i>	s/t	2003*	-27,40	1,83	-25,58
<i>CACTACEAE</i>	s	1991*	-15,60	1,53	-14,08
<i>CANNABACEAE</i>	s/t	1991*	-26,80	1,53	-25,28
<i>CARDIOPTERIDACEAE</i>	s/t	2011	-32,20	2,03	-30,18
<i>CARICACEAE</i>	t	1994*	-26,70	1,60	-25,10
<i>CELASTRACEAE</i>	s/t	1998*	-29,95	1,70	-28,25
<i>COMBRETACEAE</i>	s/t	1997*	-25,90	1,68	-24,23
<i>CYATHEACEAE</i>	t-fern	2006*	-32,94	1,90	-31,04
<i>DICKSONIACEAE</i>	t-fern	1982	-29,71	1,30	-28,41
<i>EBENACEAE</i>	t	1991*	-25,60	1,53	-24,08
<i>EPHEDRACEAE</i>	s	2007	-25,98	1,93	-24,06
<i>ERICACEAE</i>	s/t	1966	-28,70	0,90	-27,80
<i>ERYTHROXYLACEAE</i>	s	1984	-27,00	1,35	-25,65
<i>ESCALLONIACEAE</i>	s/t	2009*	-28,20	1,98	-26,23
<i>EUPHORBIACEAE</i>	s/t	1982	-30,06	1,30	-28,76
<i>FABACEAE</i>	s/t	1995*	-30,05	1,63	-28,42
<i>LAMIACEAE</i>	s/t	1982	-29,35	1,30	-28,05
<i>LAURACEAE</i>	t	1982	-31,97	1,30	-30,67

<i>LOGANIACEAE</i>	t	2002*	-28,70	1,80	-26,90
<i>LORANTHACEAE</i>	s	1982	-30,30	1,30	-29,00
<i>LYTHRACEAE</i>	s	1998*	-20,00	1,70	-18,30
<i>MALPIGHIACEAE</i>	s	1995*	-30,00	1,63	-28,38
<i>MALVACEAE</i>	s	1997*	-28,10	1,68	-26,43
<i>MELASTOMATACEAE</i>	s/t	1998*	-30,30	1,70	-28,60
<i>MELIACEAE</i>	t	1998*	-30,15	1,70	-28,45
<i>MORACEAE</i>	t	1995*	-30,80	1,63	-29,18
<i>MYRTACEAE</i>	s/t	1982	-29,10	1,30	-27,80
<i>PHYLLANTHACEAE</i>	s	2010	-30,80	2,00	-28,80
<i>POACEAE C₃</i>	s	1996	-30,70	1,65	-29,05
<i>POLYGONACEAE</i>	s/t	1982	-29,77	1,30	-29,47
<i>PRIMULACEAE</i>	t	1982	-30,93	1,30	-29,63
<i>RHAMNACEAE</i>	s/t	1997*	-27,40	1,68	-25,73
<i>ROSACEAE</i>	s/t	1982	-28,69	1,30	-27,39
<i>RUBIACEAE</i>	s/t	1998*	-30,80	1,70	-29,10
<i>RUTACEAE</i>	T	1995*	-28,60	1,63	-26,98
<i>SALICACEAE</i>	s/t	2003*	-28,00	1,83	-26,18
<i>SAPINDACEAE</i>	s/t	1996*	-31,00	1,65	-29,35
<i>SAPOTACEAE</i>	T	1995*	-29,85	1,63	-28,23
<i>SCROPHULARIACEAE</i>	S	1982	-30,32	1,30	-29,02
<i>SIMAROUBACEAE</i>	s/t	1998*	-31,16	1,70	-29,46
<i>SOLANACEAE</i>	s/t	2008	-26,35	1,95	-24,40
<i>THYMELAEACEAE</i>	S	2003*	-26,85	1,83	-25,03
<i>VERBENACEAE</i>	S	1982	-30,00	1,30	-28,70
<i>ZYGOPHYLLACEAE</i>	s/t	1992	-25,80	1,55	-24,25
Promedio					-27,09

Tabla 2. Plantas C₃ de la eco-zona de la Cuesta Basáltica, en el norte de Uruguay, con corrección por efecto Suess. Formas de vida: s = arbusto; t = árbol; s/t = arbusto o árbol; s- fern = helecho arbustivo; t- fern = helecho arbóreo (Haretche et al., 2012). * = edades calculadas en base a la fecha de publicación (ver capítulo 4 y 5)

Género / Especie	Ruta fotosintética	Fecha de Colecta	Corrección por Efecto Suess		
			$\delta^{13}\text{C}$ Media	Corrección	$\delta^{13}\text{C}$ Suess
<i>Acmella sp.</i>	NADP	1973	-12,00	1,08	-10,92
<i>Adesmia sp.</i>	NAD	1966	-22,00	0,90	-21,10
<i>Andropogon ternatus</i>	NADP	1973	-13,00	1,08	-11,92
<i>Apium leptophyllum</i>	NAD	1966	-22,00	0,90	-21,10
<i>Aristida uruguayensis</i>	NADP	1973	-14,00	1,08	-12,92
<i>Axonopus affinis</i>	NADP	1973	-11,00	1,08	-9,92
<i>Chloris sp</i>	NAD	1973	-16,00	1,08	-14,92
<i>Coelorachis selloana</i>	NADP	2003	-13,00	1,83	-11,17
<i>Cynodon dactylon</i>	NADP	1994	-14,00	1,60	-12,40
<i>Digitaria sp.</i>	NADP	1973	-12,00	1,08	-10,92
<i>Eustachys sp</i>	NADP	1982	-12,00	1,30	-10,70
<i>Leptocoryphium lanatus</i>	NADP	2003	-13,00	1,83	-11,17
<i>Ludwigia peploides</i>	NADP	2010	-14,00	2,00	-12,00
<i>Microchloa</i>	NADP	1994	-12,00	1,60	-10,40
<i>Myriophyllum brasiliensis</i>	NAD	1997	-23,00	1,68	-21,32
<i>Papalum dilatatum</i>	NADP	2003	-13,00	1,08	-11,92
<i>Paspalum notatum</i>	NADP	1973	-12,00	1,08	-10,92
<i>Paspalum plicatulum</i>	NADP	1973	-13,00	1,08	-11,92
<i>Phylla sp.</i>	NAD	1966	-23,00	0,90	-22,10
<i>Schizachyrium spicatum</i>	NADP	1973	-14,00	1,08	-12,92
<i>Setaria sp.</i>	NADP	1973	-13,00	1,08	-11,92
<i>Tripogon sp</i>	NADP	1982	-12,00	1,30	-10,70
Promedio					-13,42

Tabla 3. Plantas C₄ de la eco-zona de la Cuesta Basáltica, en el norte de Uruguay, con corrección por efecto Suess. Indicando el tipo de sub-ruta fotosintética NAD o NADP.

En el patrón isotópico generado (Fig. 2), se distinguen los diferentes gremios (pastadores, dietas mixtas y ramoneadores), luego de tener en cuenta un enriquecimiento del $\delta^{13}\text{C}$ de 14.1 ± 0.5 ‰ propuesto por Cerling y Harris (1999), entre los valores isotópicos de la dieta y los del esmalte dental para mamíferos

silvestres (>5 kg). En la Fig. 2, la línea vertical ligada al valor -13 ‰ del eje de las X, representa el promedio de $\delta^{13}\text{C}$ de los consumidores de plantas C_3 (Tabla 2) y la línea vertical en +1.0 ‰ es el promedio de los que solo consumen pastos C_4 (Tabla 3). Entre ambos valores, se encuentra las dietas mixtas.

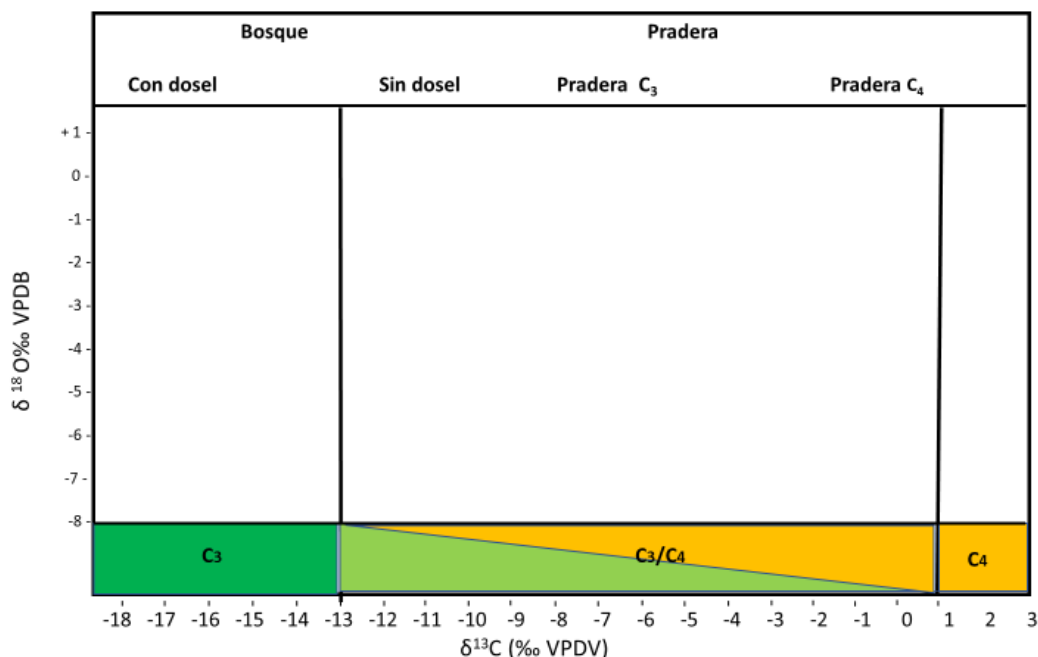


Fig. 2. Línea de base o Patrón isotópico, obtenido con los datos isotópicos de la flora autóctona de Uruguay, mostrando los diferentes gremios de mamíferos (pastadores C_4 , consumidores mixtos $\text{C}_3\text{-C}_4$ y ramoneadores C_3), luego de tener en cuenta el efecto Suess y el enriquecimiento de $\delta^{13}\text{C}$ de 14.1 ± 0.5 ‰ entre los valores isotópicos de la dieta y los del esmalte dental para mamíferos silvestres (>5 kg), propuesto por Cerling y Harris, (1999).

En el patrón isotópico generado para Uruguay, los ramoneadores con efecto dosel tienen un $\delta^{13}\text{C}$ entre -18.0 y -13.0 ‰ y las dietas mixtas ya se aprecian en las zonas forestadas sin dosel, puesto que puede coexistir en las mismas una oferta de pastos C_3 y de C_4 en menor cuantía. Esto posibilita un amplio rango para las dietas isotópicamente mixtas, que van desde un $\delta^{13}\text{C}$ de -13.0 a +1.0 ‰. Los valores de

$\delta^{13}\text{C}$ superiores a +1 ‰ corresponden a una dieta exclusiva C_4 y los mismos dependerán de las rutas fotosintéticas NAD o NADP que tenga cada especie de pastos en particular (Cerling y Harris, 1999).

Para ajustar los modelos de probabilidad a los datos y explicar la composición isotópica de la dieta como una mezcla asimilada, utilizamos un modelo mixto bayesiano de dos presas, que transforma el $\delta^{13}\text{C}$ en porcentajes de C_3 o C_4 de una dieta mixta. En este estudio elegimos utilizar como variable el porcentaje de C_3 .

7.2. Resultados en ciervos fósiles

El set de especímenes asignado a Cervidae indet., presenta un amplio rango dentro de las dietas mixtas con un $\delta^{13}\text{C}$ entre -12.38 y -4.01 ‰, que va desde un 36 % a un 96 % de asimilación de plantas C_3 y un $\delta^{18}\text{O}$ entre -3.90 y + 1.10 ‰ (Tabla 4 y 5).

Taxón	$\delta^{13}\text{C}$				$\delta^{18}\text{O}$			
	Min	Max	Media	Desvest	Min	Max	Media	Desvest
<i>Morenelaphus</i> sp.-	-9,65	-6,47	-8,23	1,23	-4,58	+0,93	-1,22	1,88
<i>M. brachyceros</i>	-	-	-6,88	-	-	-	-2,77	-
<i>Ozotoceros cf. bezoarticus</i>	-	-	-9,21	-	-	-	-3,04	-
<i>Paraceros fragilis</i>	-8,62	-8,20	-8,41	0,30	-2,01	-3,24	-2,62	0,87
Cervidae indet	-12,38	-4,01	-9,15	1,96	-3,90	+1,10	-1,39	1,37

Tabla 4. Promedios de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de los cérvidos analizados. Min =mínimo; Max = máximo; Desvest; desvío estándar.

Si se analizan los resultados, para los especímenes asignados a *Morenelaphus sp.*, éstos son los que presentan un $\delta^{13}\text{C}$ promedio relativamente más alto de -8.23 ‰ y varía entre -9.65 y -6.47 ‰, indicando un consumo C_3 del 66 % en la dieta (Tabla 4 y 5).

Por otra parte, el ejemplar de *M. brachyceros*, presentó un $\delta^{13}\text{C}$ = -6.88 ‰ (56 % de C_3) y un $\delta^{18}\text{O}$ = -2.77 ‰, , que si bien se encuentra dentro del rango de *Morenelaphus sp.*, es de los más enriquecidos.

Taxón	Mixing model - C_3 %		
	Min	Max	Media
<i>Morenelaphus sp.</i>	53	78	66
<i>M. brachyceros</i>	-	-	56
<i>Ozotoceros cf. bezoarticus</i>	-	-	73
<i>Paraceros fragilis</i>	65	59	67
Cervidae indet.	96	36	88

Tabla 5. Porcentaje de plantas C_3 asimiladas en la dieta por taxón, utilizando métodos bayesianos mixtos para dos presas.

El espécimen referido a *Ozotoceros bezoarticus* tiene un $\delta^{13}\text{C}$ de -9.21 ‰, con un 73 % de C_3 en la dieta, algo más alto que los ejemplares actuales del norte de Uruguay y un $\delta^{18}\text{O}$ = -3.04 ‰, que se encuentra en el mismo rango que los actuales (Cap. 5).

En relación a *Paraceros fragilis*, los dos especímenes provienen del Dpto. de Artigas y ambos presentan valores similares con un $\delta^{13}\text{C}$ de -8.62 y -8.20 ‰ respectivamente (Tabla 1), indicando una dieta mixta con un porcentaje de 67 % de C_3 (Tabla 5).

8. Discusión.

Como hemos mencionado, el $\delta^{13}\text{C}$ en la dieta determina la fracción de biomasa C_3 o C_4 asimilada (Cerling y Harris, 1999) y es utilizado en la reconstrucción de dietas de animales actuales y fósiles. Entre los mamíferos terrestres, se puede analizar el $\delta^{13}\text{C}$ en la fracción orgánica (colágeno) o la fracción inorgánica que se encuentra en la hidroxiapatita de huesos o dientes (CO_2). En este estudio se utilizó el CO_2 del esmalte dental, ya que tiene algunas ventajas en relación a la fracción inorgánica en hueso o dentina y al colágeno.

Entre ellas se encuentran, que el CO_2 del esmalte dental se mantiene como un sistema relativamente cerrado por más tiempo, es más difícil que los cambios diagenéticos lo afecten en la misma medida que sucede con los huesos y es un registro realista de la dieta en fósiles (Thorp y van der Merwe 1987). El carbono en el CO_2 de la hidroxiapatita, se considera una mejor aproximación a la dieta en su totalidad, porque se encuentra en equilibrio isotópico con el CO_2 de la sangre, el que deriva de la oxidación de glucosa y grasas (Wang y Cerling 1994; Koch et al.

1997; Feranec y MacFadden, 2006). A diferencia del carbono orgánico (que se encuentra en el colágeno) y que deriva mayormente de la fracción proteica de los alimentos (Krueger and Sullivan, 1984; MacFadden y Shockey, 1997; Pate, 1994).

Cuando los datos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de los consumidores, son tomados en conjunto, se puede inferir información ecológica sutil (Fig. 3), como es el tipo de hábitat, alimentos predominantes en la dieta a nivel individual (sugiriendo que partes de las plantas eran consumidas preferentemente) y el nicho ecológico (Crowley, 2014).

La línea de base isotópica, construida con datos de flora del Uruguay y validada por otros métodos (Cap. 4 y 5), nos permite tener un mayor grado de certidumbre en el momento de realizar inferencias dietarias y ambientales en los ejemplares fósiles, si bien nos consta que la flora no era exactamente la misma hace 50-25 ka, tomando en consideración datos palinológicos y de temperatura, se plantea que existió un gradiente de pasturas $\text{C}_3\text{-C}_4$ en Uruguay (Cap. 8).

En adición a los materiales identificados a nivel de género y otros a nivel de especie, hemos utilizado un set de fósiles, a los que no se pudo llegar a una determinación taxonómica, debido a su carácter fragmentario y en particular no estar asociado directamente a cornamentas. Si bien los cérvidos son de los hallazgos más frecuentes en los afloramientos, cerca de un 20 % (Ubilla, 2016), el material que se utilizó para el muestreo isotópico suele corresponder a maxilas, mandíbulas y dientes aislados.

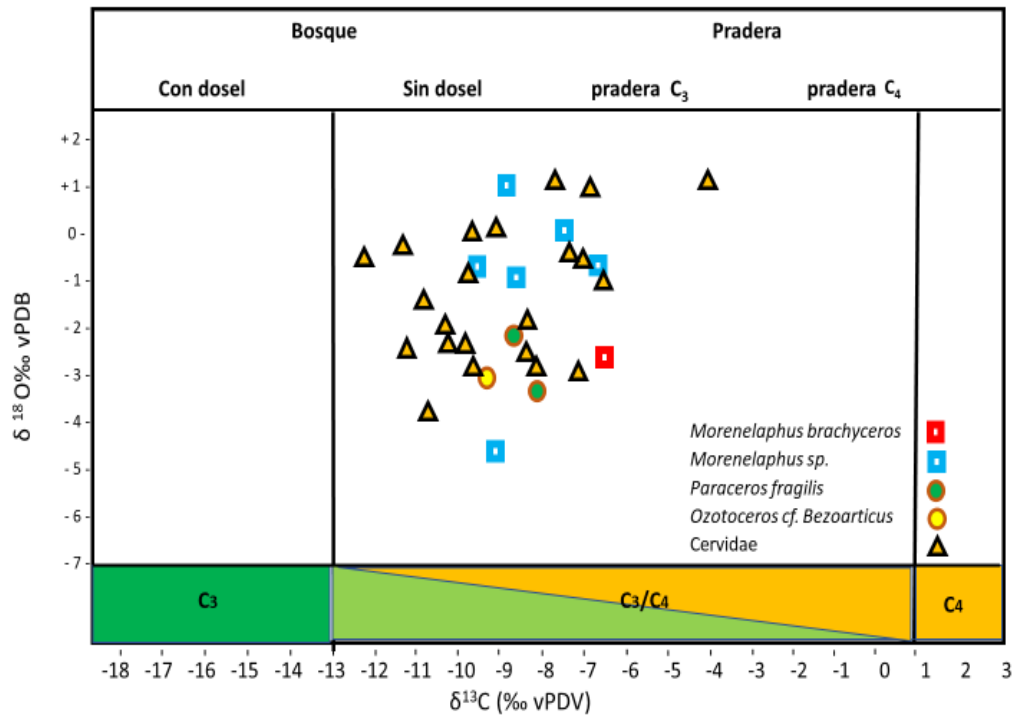


Figura 3. Patrón isotópico, mostrando el diagrama de dispersión de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, con los ejemplares de cérvidos fósiles de la Formación Sopas. Todos los valores isotópicos de los ejemplares analizados se encuentran dentro de la categoría de dietas mixtas o consumidores intermedios, no se han encontrado ejemplares que solo fueran ramoneadores con efecto dosel o pastadores C4.

Es muy probable que, entre los fósiles determinados a nivel de Cervidae, algunos pertenezcan al género *Morenelaphus* sp. (o algunas de las especies de dicho género), *Ozotoceros bezoarticus* o *Paraceros fragilis*, debido a que estos se encuentran dentro del rango de valores obtenidos para el set Cervidae (Fig. 3) y están referidos para esta unidad sedimentaria.

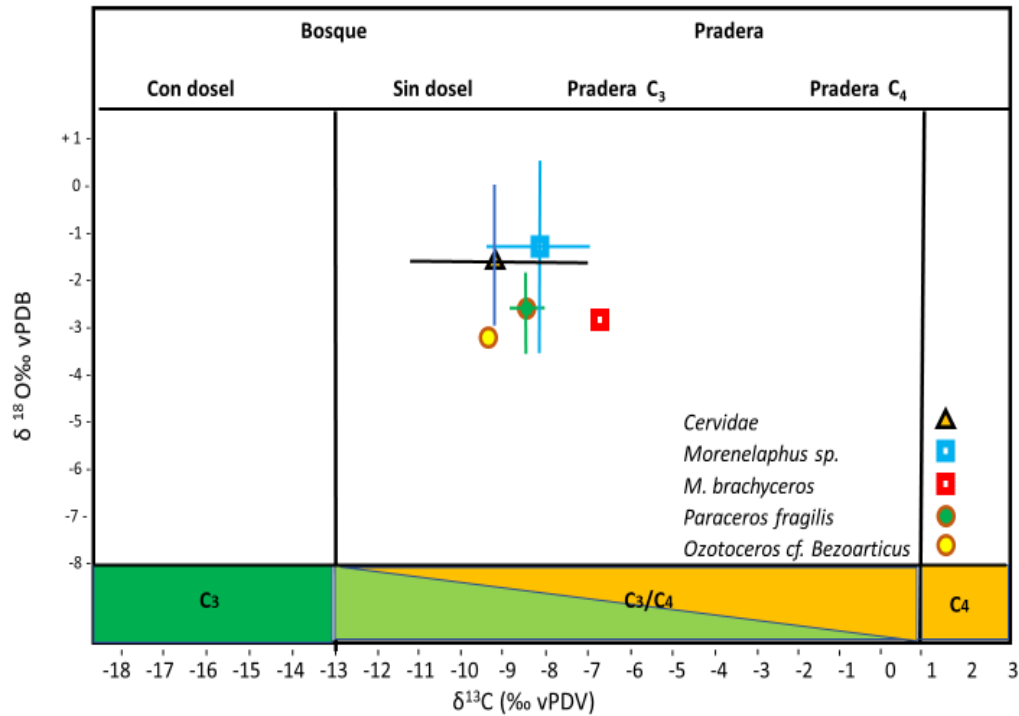


Figura 4. Patrón isotópico, mostrando el promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de los Cervidae, *Morenelaphus* sp., *M. brachyceros*, *Paraceros fragilis* y *O. cf. bezoarticus* (Tabla 4).

Entre el set de especímenes referidos a Cervidae hay un amplio rango de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ (Tabla 4 y Fig. 4), indicando dietas mixtas (vide supra), pero con amplias variaciones en el contenido C₃ a nivel individual (entre 36 y 96 %) y ambientes asociados que va desde las praderas hasta zonas arboladas sin dosel (Fig. 5)

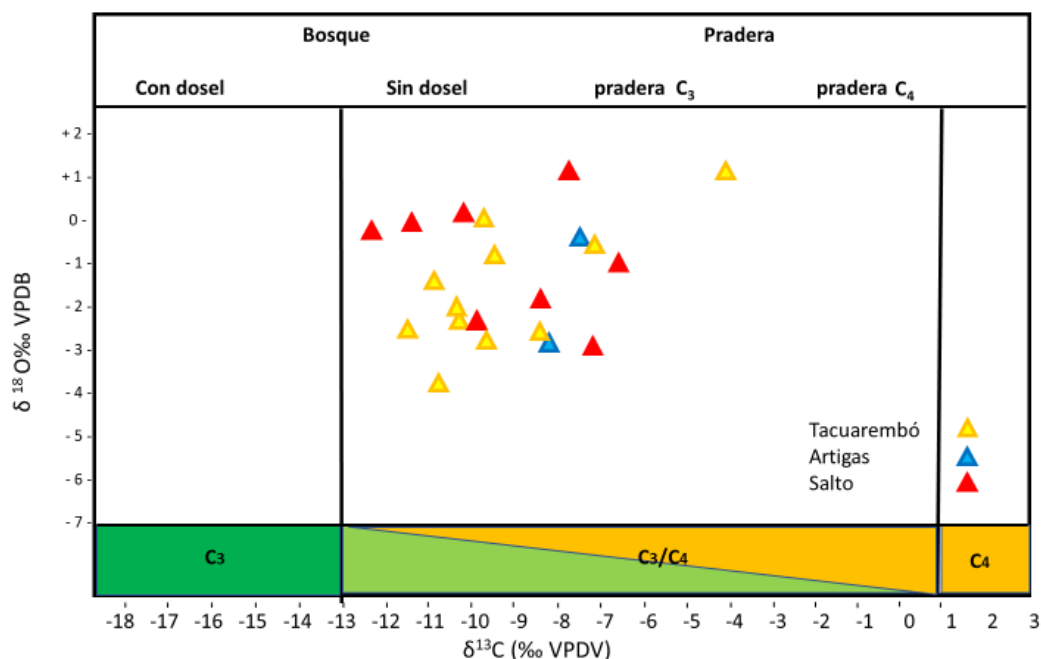


Figura 5. Patrón isotópico con diagrama de dispersión de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de Cervidae, indicando las diferentes localidades.

El promedio de los datos isotópicos de los especímenes referidos a *Morenelaphus sp.* presentan una dieta mixta $\text{C}_3\text{-C}_4$, con una tendencia hacia las plantas C_3 (67 %). Esta podría explicarse con el consumo de partes de árboles y arbustos, como ser hojas y brotes y el mayor consumo de pastos C_3 en invierno. A nivel individual, se observa un amplio rango de valores de $\delta^{18}\text{O}$ (Fig. 6), los que van de -4.58 ‰ (valores en los que se podría incluir la frugivoría), hasta de +1‰. Se puede inferir que se alimentaban preferentemente en praderas abiertas de pastos $\text{C}_3\text{-C}_4$, algunos de los cuales presentaban un importante estrés hídrico y solar.

El espécimen identificado como *M. brachyceros* también tiene una dieta mixta, pero al compararlo con *Morenelaphus sp.*, hay un menor consumo de pastos C₃, solo un 56 %, en áreas abiertas con un estrés hídrico moderado (Fig. 6).

Los datos isotópicos de *Morenelaphus* concuerdan con los de otros autores, que lo describen con una dieta mixta, con un alto porcentaje de pasturas que se alimentaba en ambientes abiertos o con pocos árboles o arbustos, pero que tenía la facultad de cambiar de pastador a ramoneador estacionalmente (Menegaz y Ortiz Jaureguizar 1995; Rotti et al., 2018; Solounias and Semprebon, 2002; Rivals and Solounias, 2007; Tomasini et al., 2020).

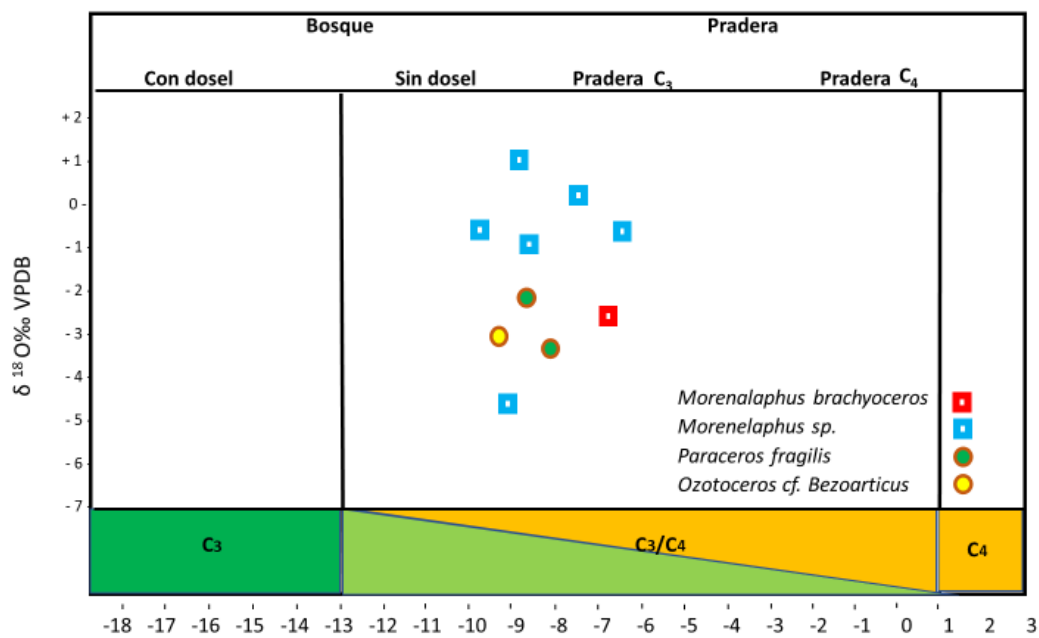


Figura 6. Patrón isotópico con diagrama de dispersión de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de: *Morenelaphus sp.*; *M. brachyceros*; *O. bezoarticus* y *Paraceros fragilis*.

Los ejemplares de *Paraceros fragilis* fueron hallados en el mismo sitio, asociados espacialmente y son parte de un grupo mayor de individuos. Los mismos

tenían diferentes estadios ontogenéticos al momento de morir, por lo que probablemente ésta fuera debido a algún evento catastrófico. Los datos aquí presentados, si bien son preliminares teniendo en cuenta que solo están basados en dos especímenes, serían los primeros sobre dieta y ambientes asociados de *Paraceros fragilis*, ya que hasta el momento no se tenía conocimiento sobre cuales podían ser sus estrategias alimentarias. Estos ejemplares presentan valores semejantes de $\delta^{13}\text{C}$ (Tabla 1), indicando una dieta mixta de 67 % de C_3 , un porcentaje similar al de *Morenelaphus sp.*, pero que se encuentra influenciado por un $\delta^{18}\text{O}$ más empobrecido. Lo que sería indicativo de una dieta con leve preferencia por el ramoneo, con plantas que tenían un estrés hídrico moderado y que se alimentaba en áreas con algún tipo de cobertura vegetal, a diferencia de *Morenelaphus sp.* (Fig. 6) non La 1;38

El venado de campo, actualmente ocupa varias zonas en Sudamérica y se lo considera un consumidor intermedio o mixto (vide supra). Está adaptado anatómica y fisiológicamente para consumir una amplia variedad de plantas y gramíneas. Dependiendo de la oferta, selecciona las plantas por el estado fenológico en que se encuentran más que por el tipo de planta. Elige las partes que son más nutritivas, come ser: brotes de gramíneas, hojas, flores y frutos de árboles y arbustos. Isotópicamente se pueden inferir diferentes paleoambientes y tipos de dieta y todos ellos pueden ser validos (Cap. 5)

Los datos que se obtuvieron para el espécimen fósil atribuido a *O. bezoarticus* (MHD-P138A), indican una dieta mixta con preferencias por plantas y pasturas C₃, las que crecieron con un estrés hídrico y solar intermedio (Tabla 4; Figs. 3 y 6).

Si comparamos los valores de MHD-P138A con los de los ejemplares actuales del norte del País (ecozona de la Cuesta Basáltica, la que a grandes rasgos se superpone con la Formación Sopas), hallamos que el $\delta^{13}\text{C}$ se encuentra bastante empobrecido, indicando un componente mayor de C₃ en la dieta. Los ejemplares actuales tienen un rango de 41 a 70 %, con un promedio del 55 % (Cap. 5), mientras que MHD-P138A tiene un porcentaje del 73 % (Tabla 5).

Si se analizan las posibles causas de pequeña diferencia, se ha referido que alrededor de los 40 Ka, hubo un desmejoramiento climático (Behling, H., 2002). Este desmejoramiento, debido a las corrientes polares horizontales que prevalecieron en ese periodo (Ledru et al., 1966; Pedro et al., 2018), habría propiciado que el ecotono C₃-C₄, que actualmente está más al sur, hubiera migrado hacia lo que hoy es el norte de Uruguay. Aumentando la oferta de pastos C₃, sin que las pasturas C₄ desaparecieran, viéndose reflejada en la dieta de MHD-P138A (Cap. 8 y referencias incluidas)

8.1. Gradiente latitudinal C₃-C₄

Si se toma en cuenta la localidad de los sitios fosilíferos como variable latitudinal (Fig. 1), el Dpto. de Tacuarembó es el que se encuentra más al sur, el Dpto. de Salto está al noroeste de Tacuarembó, pero comparte una zona en la misma latitud, mientras que el Dpto. de Artigas es el que está más al norte (<https://www.rau.edu.uy/uruguay/geografia/Uy.map.htm>).

Considerando estas diferencias latitudinales, (si bien no son muy pronunciadas), al comparar el promedio del $\delta^{13}\text{C}$ de los Cervidae indet. agrupados por localidad (tabla 6), en el Dpto. de Artigas el promedio del $\delta^{13}\text{C}$ se encuentra más enriquecido que en los Dptos. de Salto y Tacuarembó. Esto estaría indicando que, en los Cervidae indet. del Dpto. más norteño hay un mayor consumo de pastos C₄ (aprox. un 10 %).

Departamento	$\delta^{13}\text{C}$				$\delta^{18}\text{O}$			
	Min	Max	Media	Desvest	Min	Max	Media	Desvest
Artigas	-8,55	-7,52	-8,03	0,72	-1,96	-0,52	-1,24	1,02
Salto	-12,38	-6,84	-9,27	2,02	-2,94	1,10	-1,11	1,46
Tacuarembó	-11,22	-4,01	-9,28	2,11	-3,90	1,07	-1,63	1,43

Tabla 6. Promedios de isótopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de los Cervidae indet. agrupados por localidad. Min = mínimo; Max = máximo; Desvest = Desvío estándar.

Al hacer el mismo análisis, pero esta vez con *Morenelaphus sp.*, encontramos una situación similar, en el Dpto. de Artigas el promedio del $\delta^{13}\text{C}$ se encuentra relativamente enriquecido en relación a los otros dos Dptos., en una proporción similar (10 %), lo que también indicaría una mayor oferta de pasturas C_4 (Tabla 7).

Departamento	Especie	$\delta^{13}\text{C}$				$\delta^{18}\text{O}$			
		Min	Max	Media	Desvest	Min	Max	Media	Desvest
Artigas	<i>Morenelaphus sp.</i>	-9,23	-6,47	-7,52	1,49	-4,58	-0,80	-2,72	1,89
Salto	<i>Morenelaphus sp.</i>	-	-	-8,95	-	-	-	0,93	-
Tacuarembó	<i>Morenelaphus sp.</i>	-9,65	-7,69	-8,70	0,98	-1,01	0,30	-0,44	0,67

Tabla 7. Promedios isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ de *Morenelaphus sp.*, agrupados por localidad. Min = mínimo; Max = máximo; Desvest = desvío estándar.

Ambos análisis concuerdan en que tanto los Cervidae indet. como *Morenelaphus sp.*, presentan un $\delta^{13}\text{C}$ más enriquecido en el Dpto. de Artigas que en los Dptos. de Salto y Tacuarembó. Este fenómeno estaría más relacionado con la oferta de C_4 , que sería mayor en el norte, que con preferencias dietarias.

Como ensayo preliminar, en base a estos datos isotópicos y a los estudios palinológicos llevados a cabo en el sur y sureste de Brasil (capítulo 8), entre los 50 y 25 ka, en el norte de Uruguay habría existido un gradiente latitudinal norte-sur de pasturas $\text{C}_3\text{-C}_4$, que incrementaba la proporción de C_4 a medida que se disminuye la latitud (Ledru et al., 1966).

9. Conclusiones

- Este es el primer estudio en el que se utilizan isotopos estables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$, para inferir dietas en cérvidos fósiles pertenecientes a la Formación Sopas de Uruguay.
- Se infiere que los especímenes referidos a *Morenelaphus sp.* tenían una dieta mixta, con leve tendencia hacia los pastos C_3 (66 %) de áreas abiertas o praderas.
- *M. brachyceros* también muestra una dieta mixta, se alimentaba en áreas relativamente abiertas, con menor consumo de pastos C_3 que *Morenelaphus sp* (56 %).
- El espécimen referido a *Ozotoceros bezoarticus* tenía una dieta mixta con preferencias por plantas y pasturas C_3 . Presenta un $\delta^{13}\text{C}$ más empobrecido (mayor porcentaje de C_3 en la dieta), que los ejemplares actuales de la misma zona. Posiblemente debido a un desmejoramiento climático en el Pleistoceno tardío.
- Se proporcionan los primeros datos dietarios y ambientales de *Paraceros fragilis*, los que indican una dieta mixta, con leve preferencia por el ramoneo en áreas relativamente arboladas.
- Los especímenes de Cervidae que no pudieron ser determinados,

tenían una dieta mixta C₃ con un amplio rango en la composición de la misma (de 36 a 96 % de C₃) y características ambientales variadas, desde praderas C₃- C₄ a bosques sin dosel. No se descarta que alguno o varios de estos ejemplares pertenezcan a las especies identificadas para esta unidad sedimentaria.

- Ninguno de los cérvidos estudiados, independientemente del nivel taxonómico considerado, eran ramoneadores exclusivos C₃ o pastadores exclusivos C₄.
- Nuestros resultados concuerdan en general, con los obtenidos por otros autores que utilizaron métodos no isotópicos (morfología craneal y dental, micro y mesowear e hipsodoncia, entre otros).
- En base a los datos isotópicos, los cérvidos indet. y *Morenelaphus sp.*, del Dpto. de Artigas, presentaban un mayor porcentaje de pasturas C₄ (10 %) que aquellos colectados en afloramientos más al sur, lo que podría indicar la existencia de un ecotono C₃- C₄ entre los 50-25 ka.

Referencias Bibliográficas

- Ambrose, SH., DeNiro, MJ., 1986. The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*. 69(3):395–406.
- Behling, H., 2002. South and southeast Brazilian grasslands during Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 177 (2002) 19 – 27.
- Balasse, M., 2003. Potential biases in sampling design and interpretation of intratooth isotope analysis. *Int. J. Osteoarchaeol.* 13, 3e10.
- Bernardes, C., Sicuro, F.L., Avilla, L.S., Pinheiro, A.E.P., 2013. Rostral reconstruction of South American hippidiform equids: new anatomical and ecomorphological inferences. *Acta Palaeontol. Pol.* 58, 669–678.
- Bender, M.M., 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry* 10 (6), 1239e1244.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., 2013. Terrestrial teeth and bones. In: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1. Elsevier, Amsterdam, pp. 304e314.
- Brazeiro, A., Panario, D., Soutullo, A., Gutierrez, O., Segura, A., Mai, P., 2012. Clasificación y delimitación de las eco-regiones del Uruguay. Informe Técnico. Convenio MGAP/PPR – Facultad de Ciencias/Vida Silvestre/ Sociedad Zoológica del Uruguay/CIEDUR. 40p. (Montevideo, Uruguay).

- Cabrera, A. 1943. Sobre la sistemática del venado y su variación individual y geográfica. *Revista del Museo de La Plata. Sec. Zool*; 18: 5-41.
- Carette, E., 1922. Cérvidos actuales y fósiles de Sud América. Revisión de las formas extinguidas pampeanas. *Revista del Museo de La Plata*, Vol. 26, p. 393-472.
- Castellanos, A., 1924. CIERVOS, VIVIENTES y EXTINGUIDOS de la REPUBLICA ARGENTINA (NOTA PRELIMINAR).
- Cerling, T.E., Harris, J.M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120(3), 347–363.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation changes through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389 (6647), 153e158.
- Cerling, T.E., Hart, J.A., Hart, T.B., 2004. Stable isotope ecology in the Ituri forest *Oecologia*. 138(1):5–12.
- Cione, A., Gasparini, G., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Tonni, E.P., 2015. The Great American Biotic Interchange. A South American Perspective. *Springer Briefs in Earth System Sciences*, London.
- Chimento, N.R., Zuccari, J.I., Marchetto, J.M., Berbbach, M., 2019. NUEVOS RESTOS DE CIERVOS (CERVIDAE, MAMMALIA) PARA EL PLEISTOCENO DE LA REGIÓN PAMPEANA (ARGENTINA): CONSIDERACIONES

PALEOBIOGEOGRÁFICAS Y PALEOECOLÓGICAS Revista Brasileira de Paleontologia, 22(1):67–85, Janeiro/abril 2019.

González, S., Cosse, M., Gross Braga, F., Vila, AR., Merino ML., 2010. PAMPAS DEER *Ozotoceros bezoarticus* (Linneus 1758. In *Neotropical Cervidology: Biology and Medicine of Latin American Deer*. Ed JBM Duarte, S Gonzalez, pp 119-32. Jaboticabal: Funep/IUCN

González, S., Jackson, III, J.J. & Merino, M.L., 2016. *Ozotoceros bezoarticus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016*: e.T15803A22160030. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T15803A22160030>. Downloaded on 29 August 2020.

Crowley, B.E., 2014. Oxygen isotope values in bone carbonate and collagen are consistently offset for New World monkeys. *Biol. Lett.* 10, 20140759. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0759>

Dantas. M., Dutra, R., Cherkinsky, A., Fortier, D., Kamino, L., Cozzuol, M., Riveiro, A., Vieira, F., 2013.. Paleoeecology and radiocarbon dating of the Pleistocene megafauna of the Brazilian Intertropical Region. *Quaternary Research*, 79(1), 61-65. Doi:10.1016/j.yqres.2012.09.006

de Melo Franca, L., de Acevedo, L., Dantas M.A.T., Bocchiglieri, A., Dos Santos Avilla, L., Pereira Lopez, R., Lopez da Silva, J.L., 2014. Review of feeding ecology data of Late Pleistocene mammalian herbivores from South America

- and discussions on niche differentiation. *Earth-Science Reviews* 140, 158-165. DOI: [10.1016/j.earscirev.2014.10.006](https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2014.10.006)
- Domingo, L., Ruiz Pessenda, M., Rasbold, G.G., Edwards, L.O., 2019. MULTIPROXY ANALYSIS (PHYTOLITHS, STABLE ISOTOPES, AND C/N) AS INDICATORS OF PALEOENVIRONMENTAL CHANGES IN A CERRADO SITE, SOUTHERN BRAZIL. *Revista Brasileira de Paleontologia*, 22(1):15–29, Janeiro/Abril 2019.
- Drucker, D., Bocherens, H., Bridault, A., Billiou, D., 2008 Carbon and nitrogen isotopic composition of red deer (*Cervus elaphus*) collagen as a tool for tracking palaeoenvironmental change during the Late-Glacial and Early Holocene in the northern Jura (France). *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 195(3–4):375–388. *Revista Brasileira de Paleontologia*, 22(1):15–29, Janeiro/abril 2019 doi:10.4072/rbp.2019.1.02
- Ehleringer, J.R., Field, C.B., Lin, Z.F., Kuo, C.Y., 1986. Leaf carbon isotope and mineral composition in subtropical plants along an irradiance cline. *Oecologia* 70(4), 520–526.
- Ehleringer, J.R., Sage, R.F., Flanagan, L.B., Pearcy, R.W., 1991. Climate change and the evolution of C₄ photosynthesis. *Trends in Ecology and Evolution* 6(3), 95–99.
- Fenerac, R., 2008. Using stable isotopes as an additional tool to understand ancient human environments. *Coloquios de Paleontología* 58 (2008): 7-11

- Feranec, RS., MacFadden, BJ., 2006. Isotopic discrimination of resource partitioning among ungulates in C₃-dominated communities from the Miocene of Florida and California *Paleobiology*, 32(2), 2006, pp. 191–205
- Francey, RJ., Colin, AC., Trudinger, CM., Langenfelds, RL., 1999. A 1000-year high precision record of d13C in atmospheric CO₂. *Tellus B* 51, 170_193
- Friedli, H., Lotscher, H., Oeschger, H., Siegenthaler, U., Stauffer, B., 1986. Ice core record of the 13C/12C ratio of atmospheric carbon dioxide in the past two centuries. *Nature* 324, 237e238.
- Hair, JF., Black, WC., Babin, BJ., Anderson, RE., 2010. Multivariate Data Analysis. Seven edition. Pearson new international edition. Prentice Hall.
- Haretche, F., Mai, P., Brazeiro, A., 2012. Woody flora of Uruguay: inventory and implication within the Pampean region. *Acta Bot. Bras.* 26(3): 537-552.
- Hillson, S., 1986. Teeth. Cambridge: Cambridge Univ. Press; p. 376. Archaeology and the study of teeth. *Endeavour*. 10, 145-149.
www.cambridge.org/978052183701
- Hofmann, RR., Stewart, DRM., 1973. Grazer or browser: a classification based on the stomach-structure and feeding habits of East African ruminants. *Mammalia*. 36(2):226–240.
- Hofmann, RR., 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78, 443-457.

- Hofmann, RR., Stewart, DRM., 1972. Grazer or browser: a classification based on the stomach-structure and feeding habits of East African ruminants. *Mammalia* 36: 226–240.
- <https://www.rau.edu.uy/uruguay/geografia/Uy.map.htm>)
- Illius, AW., Gordon, IJ., Elston, DA., Milne, JD., 1999. Diet selection in goats: a test of intake-rate maximization. *Ecology* 80, 1008–1018
- Keeling, CD., 1979. The Suess effect: ^{13}C - ^{14}C interrelations - Environment International, 1979 - Elsevier
- Keeling, C., Piper, S., Whorf, T., Keeling, R., 2011. Evolution of natural and anthropogenic fluxes of atmospheric CO_2 from 1957 to 2003. *Tellus* 63B, 1-22.
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *Journal of Archaeological Sciences* 24(5), 417–429.
- Kortzinger, A., P.D. Quay, R.E. Sonnerup., 2003. The relationship between anthropogenic CO_2 and $\delta^{13}\text{C}$ Suess effect in the North Atlantic Ocean, *Global Biogeochem*, 16, doi:10.1029/2001GB001427.
- Krueger, HW., Sullivan, CH., 1984. Models for carbon isotope fractionation between diet and bone. In: Turnland JR, Johnson PE (eds) *Stable isotopes and nutrition*. American Chemical Society Symposium Series no 258, pp 205-220.

- Ledru, M.P., Sores Braga, P.I., Soubies, F., Fournier, M., Martin, L., Suguio, K., Turcq, B., 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 123, 239-257.
- MacFadden, B. J. and Cerling, T. E., 1996. Mammalian herbivore communities, ancient feeding ecology, and carbon isotopes: a 10-million-year sequence from the Neogene of Florida. *J. Vert. Paleontol.* 16, 103–115 (1996)
- MacFadden, B.J., Shockey, B., 1997. Ancient feeding ecology and niche differentiation of Pleistocene mammalian herbivores from Tarija, Bolivia: morphological and isotopic evidence. *Paleobiology* 23, 77-100.
- MacFadden, B., Cerling, T. and Prado J., 1996. Cenozoic Terrestrial Ecosystem Evolution in Argentina: Evidence from Carbon Isotopes of Fossil Mammal Teeth <https://www.researchgate.net/publication/271205620>
- MacFadden, B.J., Cerling, T.E., Harris, J.M., Prado, J., 1999. Ancient latitudinal gradients of C₃/C₄ grasses interpreted from stable isotopes of New World Pleistocene horse (*Equus*) teeth. *Global Ecology and Biogeography* 8(2), 137-149.
- Manzuetti, A., Perea, D., Ubilla, M., Rinderknecht, A., 2018. First record of *Smilodon fatalis* Leidy, 1869 (Felidae, Machairodontinae) in the extra-andean region of South America (late Pleistocene, Sopas Formation), Uruguay: taxonomic and paleobiogeographic implications. *Quat. Sci. Rev.* 180, 57e62.

- Menegaz, A., y Ortiz-Jaureguizar, E., 1995. Los Artiodáctilos. In M.T. Alberdi, G. Leone & E.P. Tonni (eds.): Evolución biológica y climática de la región pampeana durante los últimos cinco millones de años. Monografías Museo Nacional de Ciencias Naturales CSIC Madrid. 311-337.
- Merino, ML., 2003. Dieta y uso del hábitat del venado de las pampas, *Ozotoceros bezoarticus celer* Cabrera 1943 (*Mammalia-Cervidae*) en la Bahía Samborombón, Buenos Aires, Argentina. Implicancias para su conservación. PhD thesis Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata- Argentina.
- Merino, M., Vieira, R., 2010. Origin, systematics and morphological radiations. In J.M. Barbanti y S. González (eds): Neotropical Cervidology. Biology and Medicine of Latin American deer. 1: 2-11. Funep-IUCN.
- Morosi, E., Ubilla, M., 2017. Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). Historical Biology 31, 196-202.
- Morosi E., Ubilla M., 2019. Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). Quaternary Science Review. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>

- Nelson, S.V., 2013. Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 280 (1773), 20132324.
- O'Leary, M., 1988 Carbon Isotopes in Photosynthesis: Fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamics in plants. *Bio Science*, Volume 38, Issue 5, May 1988, Pages 328–336, <https://doi.org/10.2307/1310735>
- Parnell, A.C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A.L., 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *Plos one* 5(3), e9672.
- Pedro, J., Jochum, M., Buizert, C., Feng, H., Barker, S., Rasmussen, S., 2018. Beyond the bipolar seesaw: Toward a process understanding of interhemispheric coupling. *Quaternary Science Reviews* 192:27-46.
- Pérez-Crespo, V., Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2018. Stable isotopes and diets of Pleistocene horses from southern North America and South America: similarities and differences. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments* 98(4), 663-674.
- Pate, D., 1994. Bone chemistry and paleodiet. *J Archaeol Method Th* 1(2):161-209. doi:10.1007/BF02231415
- Peterson, B., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematic* 18(1), 293–320.
- Phillips, D., 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing models. *Journal of Mammalogy* 93(2), 342–352.

- Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2017. Fossil Horses of South America. The Latin American Studies Book Series, Springer Nature, Switzerland.
- Prado, J.L., Sanchez, B., Alberdi, M.T., 2011. Ancient feeding ecology inferred from stable isotopic evidence from fossil horses in South America over the past 3 Ma. *BMC Ecology* 11, 1-13.
- Putman, R., 1988. The natural history of deer. Ithaca, Comstock. 191 p.
- Rivals, F., Solounias, N., 2007. Differences in tooth microwear of caribous (*Rangifer tarandus*, Ruminantia, Mammalia) and implications to ecology, migration, glaciations and dental evolution. *Journal of Mammalian Evolution* 14, 182–192
- R Core Team, 2019. Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- A. Rotti, D. Mothé, L. dos Santos Avilla, GM. Semprebon. 2018. Diet reconstruction for an extinct deer (*Cervidae: Cetartiodactyla*) from the Quaternary of South America.
- SIAR and SIBER Programs. 2016. Stable isotope analysis in R. Available from: <https://cran.r-project.org/>
- Solounias N, Semprebon G. 2002. Advances in the reconstruction of ungulate ecomorphology with application to early fossil equids. *Am. Mus. Novit.* 3366:1–49.

- Thorp, J.L., Van Der Merwe, N.J., 1987. Carbon isotope analysis of fossil bone apatite. *S Afr J Sci.* 83(11):712–715.
- Tieszen, L.L., 1999. Natural variations in the carbon isotope values of plants: Implications for archaeology, ecology, and paleoecology. *Journal of Archaeological Science* 18: 227–248.
- Tomasinni, R.L., C.I. Montalvo, M.C .Garrone, L. Domingo, J. Ferigolo, L.E. Cruz, D. Sanz-Perez, Y. Fernandez-Jalvo, I. A. Cerda. 2020. Gregariousness in the giant sloth *Lestodon* (Xenarthra): multi-proxy approach of a bonebed from the Last Maximum Glacial of Argentine Pampas. *Sci Rep* 10, 10955 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67863-0>
- Ubilla, M., 1996. *Paleozoología del Cuaternario continental de la cuenca norte del Uruguay: biogeografía, cronología y aspectos climático-ambientales*. PhD thesis. Universidad de la República, Pedeciba, Uruguay.
- Ubilla, M., Martinez, S., 2016. *Geology and Paleontology of the Quaternary of Uruguay*. Springer Briefs in Earth System Sciences, New York (NY) (Switzerland).
- Ubilla, M., Perea, D., Goso, C., Lorenzo, N., 2004. Late Pleistocene vertebrates from northern Uruguay: tools for biostratigraphy, climatic and environmental reconstruction. *Quaternary International* 114, 129-142.

- Ubilla, M., Corona, A., Rinderknecht, A., Perea, D., Verde, M., 2016. Marine Isotope Stage 3 (MIS 3) and continental beds from Northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini G., Rabassa J., Deschamps, M., Tonni, E. (Eds), Marine Isotope Stage 3 in Southern South America, 60 ka BP-30 ka BP. Serie Springer Earth System Sciences, pp. 183–205.
- Valli, A., 2018. Late Pleistocene deer in the region of the National Park “Serra da Capivara” (Piauí, Brazil). *Quaternary* 1, 4; doi:10.3390/quat1010004.
- Van der Merwe, N.J., Medina, E., 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53(5), 1091–1094.
- Van der Merwe, N.J., Medina, E., 1991. The canopy effect, carbon isotope ratios and food webs in Amazonia. *J. Archaeol. Sci.* 18 (3), 249e259.
- Verde, M., Ubilla, M., Jiménez, J.J., Genise, J.F., 2007. A new earthworm trace fossil from paleosols: aestivation chambers from the Late Pleistocene Sopas Formation of Uruguay. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 243, 339–347.
- Wang Y, Cerling TE. 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 107:281–289.

CAPÍTULO 7

Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). Quaternary Science Review. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>

Este capítulo, publicado en revista internacional como adelanto parcial de avance de la tesis, conjuntamente con el capítulo 8 (ambos escritos en inglés), presentan los primeros resultados de dieta y ambiente asociado de *Equus neogeus* e *Hippidion principale* de la Formación Sopas, durante el MIS-3 (50 y 30 ka).

Además de los datos isotópicos, se analizó el índice de hipsodoncia de adultos y juveniles. Los resultados de ambos proxis, indican que *E. neogeus* era un pastador mixto de áreas abiertas (praderas), con una proporción variable de C₃-C₄, mientras que *H. principale* tenía una dieta mixta, con preferencias por plantas y pastos C₃ de áreas boscosas sin dosel, lo que puede explicar la simpatría de ambos taxa. Encontramos los datos isotópicos concordante con los resultados de otros estudios independientes no isotópicos.

El $\delta^{13}\text{C}$ de los juveniles se encuentra empobrecido y el $\delta^{18}\text{O}$ enriquecido en relación a los adultos, lo que podría ser explicado por un efecto materno, debido al fraccionamiento isotópico en la gestación y lactancia.



Feeding and environmental studies on late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay)

Elizabeth Morosi*, Martin Ubilla

Facultad de Ciencias, Dpto. Paleontología, ICG, Universidad de la Republica, Iguá 4225, Montevideo, 11400, Uruguay

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 June 2019

Received in revised form

31 August 2019

Accepted 21 October 2019

Available online xxx

Keywords:

Pleistocene

South America

Northern Uruguay

Stable isotopes

E. neogeus

H. principale

Suess effect

Maternal effect

Hypsodonty

ABSTRACT

The first analyses of carbon and oxygen stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$) on horses of late Pleistocene beds, between 50 and 30 kyr B.P., at mid-latitudes of South America (northern Uruguay), are reported here. Isotopic analyses on *Equus neogeus* and *Hippidion principale* were made on tooth enamel, considering the Suess Effect. Isotopic values have been used as indicators of diets and environmental conditions, alongside with Hypsodonty Index, to pinpoint specific feeding strategies as grazer or browser. *E. neogeus* was a mixed-grazer that fed mostly on C_3 grass in open wooded areas and grasslands with a variable proportion of C_4 grass in the diet. *H. principale* was a mixed feeder with preference for open canopy wooded floor C_3 grass and plants. These results could explain the co-occurrence of both taxa that evolved a combination of feeding and habitat preferences that resulted in niche differentiation. The isotopic data supports the diversity of habitats previously proposed by other authors and corroborate the environmental context associated to the mammal assemblage in late Pleistocene at these latitudes of South America. Juveniles show $\delta^{13}\text{C}$ depletion and $\delta^{18}\text{O}$ enrichment related to adults. This shift could be explained by maternal effect, owing to gestation and lactation (depleted $\delta^{13}\text{C}$ and enriched $\delta^{18}\text{O}$). The later because breast milk is significantly enriched in $\delta^{18}\text{O}$ in comparison to drinking water and also is not fractionated in the same way as plant-derived carbon.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Horses were one of several mammal groups entering South America (SA) during the Great American Biotic Interchange. There is a consensus that in the Plio-Pleistocene the Central American isthmus emerged (ca. 2.5 Ma), performing a terrestrial connection among SA, Central and North America (Prado et al., 2011; Cione et al., 2015). Two lineages of horses were living in the Pleistocene of SA represented by the genus *Hippidion* and *Equus*, which are anatomically different (see Prado and Alberdi, 2017 for updated and compiled information).

Hippidion includes three species (*H. principale*, *H. devillei*, and *H. saldiasi*) and is first recorded from Plio-Pleistocene beds of Argentina and persisted into the late Pleistocene on the continent (Cione et al., 2015; Prado and Alberdi, 2017). According to Prado and Alberdi (2017), the equidiforms are represented by three species (*E. neogeus*, *E. andium*, and *E. insulatus*). The earliest record of *Equus*

is dated from the medium Pleistocene of Bolivia and widespread through SA to latest Pleistocene (MacFadden, 2013). Morphological studies suggest that the SA species of *Equus* represent a species cline, being mostly recognized *E. andium* and *E. neogeus* (Machado et al., 2018). Molecular studies corroborate the proposal, based on paleontological and morphological analysis, about the identity of *Hippidion* and *Equus* in SA (Der Sarkissian et al., 2015). These studies support the *Hippidion* as a monophyletic basal clade to the *Equus* lineage and splitting from *Equus* ca. 6 Ma or less, but before the installation of the isthmus (Orlando et al., 2008; Der Sarkissian et al., 2015). This opens the question about the presence of hippidiforms in Central or North America region before the interchange.

Within the past decades, combined geochemical and paleontological studies have revealed that carbon and oxygen stable isotopes in mammal teeth preserve a record of ancient environments and change on terrestrial ecosystems. Specifically, carbon isotopes preserved the photosynthetic pathways record (C_3 , C_4 or CAM) of plant foodstuffs ingested by mammalian herbivores (MacFadden and Shockey, 1997). In SA, isotopic studies in fossil horses (mostly from Argentinean Pampean Region, Bolivia, Chile, Peru, Ecuador, Colombia, and more recently some results from Brazil), have

* Corresponding author.

E-mail addresses: elamor37@gmail.com (E. Morosi), martinubilla@gmail.com (M. Ubilla).

significantly increased, focused on feeding strategies, environment related, and ecological adaptations (MacFadden and Shockey, 1997; Prado et al., 2011; Dantas et al., 2017; Prado and Alberdi, 2017; Pérez-Crespo et al., 2018, among others).

To this moment there are no previous stable isotope studies in fossil horses from Uruguay. Here we provide the first isotopic study on *Hippidion principale* and *Equus neogeus*, from late Pleistocene beds of northern Uruguay, in order to analyze their feeding strategies and infer associated environmental conditions at these latitudes of South America. We will discuss carbon and oxygen isotopic composition in conjunction with hypsodonty, to discriminate among guilds (C_3 browsers or grazers, mixed-feeders, or C_4 grazers).

2. Geological and paleontological setting

The fossil horse material studied here belong to several outcrops of the Sopas Formation (late Pleistocene), which is located in northern Uruguay (Fig. 1). It has a patched distribution, with brownish mudstones and siltstones, medium to coarse sand and conglomerate basal beds (Fig. 2). Floodplains contexts and paleosols including bioturbation were referred (Ubilla and Martinez, 2016 and references therein). Trace-fossils (coprolites, nests, caves) and several body fossils (wood, freshwater mollusc shells, and vertebrates with mammals as the dominant group) represent a rich fossil content (Ubilla et al., 2004, 2016; Manzuetti et al., 2018). Mammal fossils at the Sopas Formation belong to ca. 25 families in 9 orders, encompassing more than 50 species, including the typical extinct mammals of the late Pleistocene of Pampean region of SA (Cione et al., 2015; Ubilla et al., 2016), and the biostratigraphic indicator *Equus neogeus* (see Cione et al., 2015 and references

therein). A late Pleistocene set of AMS radiocarbon and OSL (Optically Stimulated Luminescence) ages were reported for four of the seven outcrops where teeth were collected (Ubilla et al., 2016; Cabrera et al., 2018). Radiocarbon ages (mollusc shells) reported from two outcrops corresponding to the chronostratigraphic interval 48.9 to 36.1 cal kyr B.P. (Supplementary Table 1). The OSL ages of three outcrops encompasses the interval 47.1 to 30.9 kyr B.P. (Supplementary Table 2). Both suite of samples have ages within the MIS-3.

The fauna (fresh water molluscs, some birds and many mammals) is indicative of diverse habitats represented in the late Pleistocene beds of northern Uruguay such as grasslands, open savannahs, gallery forest and permanent streams. There are also seasonal climate indicators like some migratory birds and trace fossils (see Ubilla et al., 2016 and references therein). Since this unit includes extant fauna inhabitant under tropical to temperate climates in SA, alongside taxa related to arid to semi-arid environments, it was characterized as a mixed-fauna.

3. Introduction to stable isotope analysis in palaeontology

The carbon isotopes preserved in tooth enamel are a faithful record of the photosynthetic pathways (C_3 , C_4 , and CAM) of plant foodstuffs ingested by mammalian herbivores (MacFadden and Shockey, 1997). This is based on the way that ^{12}C and ^{13}C are fractionated in plant tissues, since different photosynthetic pathways impart different $^{13}C/^{12}C$ ratios or $\delta^{13}C$ (Bender, 1971). Tropical grass and sedge using Hatch-Slack metabolism (C_4 photosynthetic pathway) are relatively enriched in the heavy carbon isotope (^{13}C), and range from -19 to -9‰ , with a mean of -14‰ (Ehleringer et al., 1986, 1991; Cerling et al., 1997). In contrast, plants that

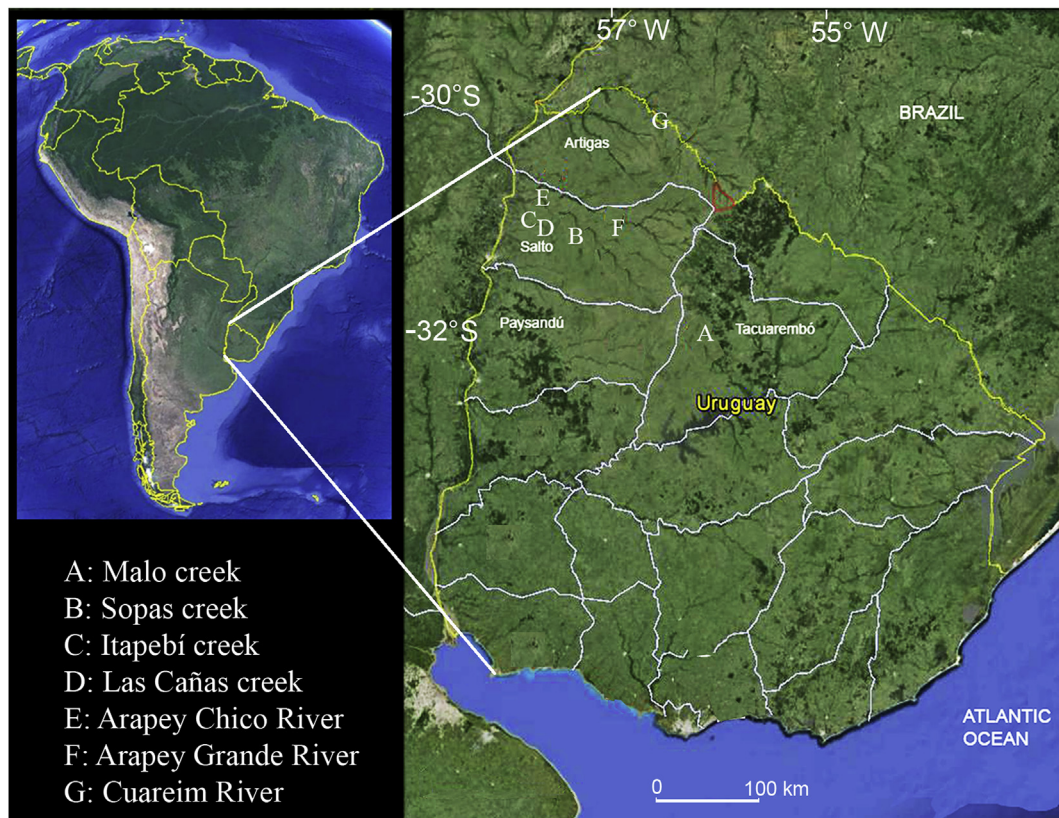


Fig. 1. Map showing locations of the seven fossil sites in northern Uruguay, from which *Equus neogeus* and *Hippidion principale* samples were taken for carbon ($\delta^{13}C$) and oxygen ($\delta^{18}O$) isotope analyses.

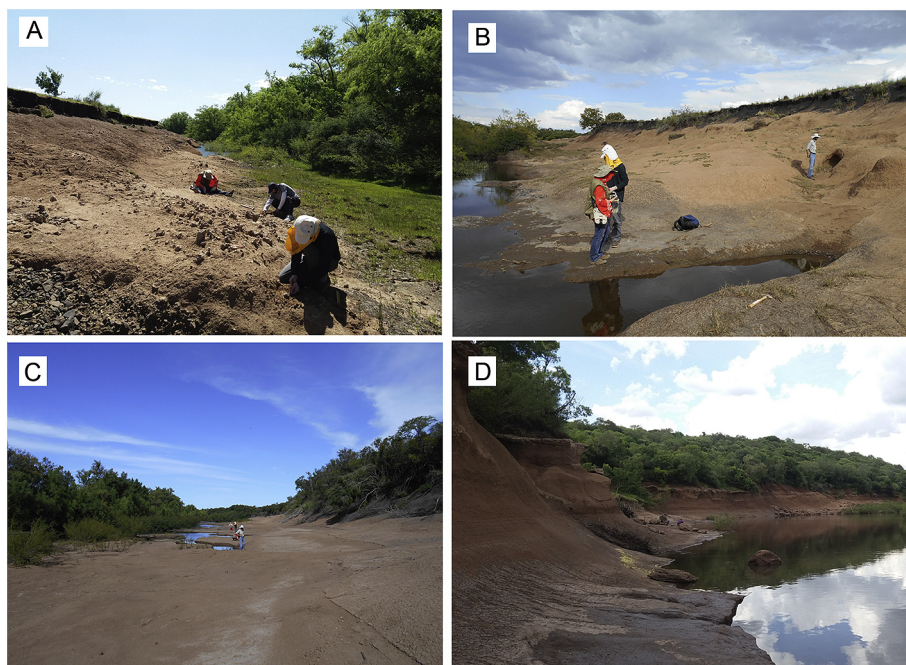


Fig. 2. Panoramic view of selected outcrops of the Sopas Formation: A: Malo creek (Tacuarembó Dept.); B: Sopas Creek (Salto Dept.); C: Arapey Chico River (Salto Dept.); D: Cuareim River (Artigas Dept.).

employ Calvin fixation cycle (C_3 photosynthetic pathway), including most trees and shrubs, as well as grass in regions with cool growing seasons, are relatively depleted in ^{13}C , and typically range from -35 to -22‰ with an average of -28‰ (Ehleringer et al., 1986, 1991; Koch et al., 1997). A third photosynthetic pathway, called CAM (crassulacean acid metabolism), will not be taken into consideration since it is not an important part of extant equids diet (Ehleringer et al., 1991). As a result, $\delta^{13}C$ in plants provide a natural marker system to track herbivore diets (Van der Merwe and Medina, 1989), and can help to indicate subtle dietary differences in the fraction of C_3 or C_4 biomass. $\delta^{13}C$ tooth enamel of mammals reflects the $\delta^{13}C$ foodstuff during tooth formation (Van der Merwe and Medina, 1991; Cerling et al., 1997). It is also possible to distinguish mammals using plants with different C_4 photosynthesis sub-pathways (NAD or NADP), and identify those in which C_3 diet is derived from closed or open canopy habitats (Cerling and Harris, 1999; Bocherens and Drucker, 2013). Considering an assemblage of mammal species that have lived in the same place and time, it can be inferred that the species inhabiting closed environments (forest with or without canopy) present relatively lower isotopic values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{18}O$, while the opposite is expected in an open environment like pampas or grasslands (Bocherens and Drucker, 2013).

To infer the kind of diet, $\delta^{13}C$ values were compared with those used by MacFadden and Shockey (1997), that distinguish among guilds, after taking into account a $\delta^{13}C$ enrichment of $14.1 \pm 0.5\text{‰}$ (Cerling and Harris, 1999), between diet and tooth enamel for wild mammals (>5 kg). Considering that $\delta^{13}C$ average for C_3 plant is -28.0‰ and for C_4 plants is -14.0‰ , then relatively to plant foodstuff, pure C_3 feeders average should be about -14.0‰ , and C_4 feeders about 0.0‰ .

3.1. The Suess Effect

Over the past two centuries, industrialization and other anthropogenic activities such as burning fossil fuels and land use

change, have emitted anthropogenic CO_2 , which is strongly depleted in its stable $^{13}C/^{12}C$ isotope composition ($\delta^{13}C$) relative to CO_2 in the air (Friedli et al., 1986). The resulting dilution of the atmospheric $^{13}C/^{12}C$ ratio by anthropogenic CO_2 emissions is known as the “ ^{13}C Suess Effect” (Keeling et al., 2011), in analogy to removal effects for the radioactive carbon isotope ^{14}C in atmospheric CO_2 . Nevertheless, the Suess Effect has decreased the $\delta^{13}C$ values of atmospheric CO_2 by -1.5‰ , from -6.5 to -8.0‰ to the year 2000 AD (Friedli et al., 1986; Keeling et al., 2011), and this $\delta^{13}C$ atmospheric shift affects almost all living organisms.

Owing to the Suess Effect, this shift is corrected by adding $+1.5\text{‰}$, in this way anthropogenic $\delta^{13}C = -8.0\text{‰}$ for the atmosphere is compensated to $\delta^{13}C = -6.5\text{‰}$ pre-industrial value (Friedli et al., 1986; Cerling and Harris, 1999). Therefore, $\delta^{13}C$ enamel values between -20.5 and -13.0‰ indicate mammals would have fed in a closed canopy woodland environment, due to photosynthetic use of Carbon dioxide ^{13}C depleted from biomass recycling and lower light intensities (Van der Merwe and Medina, 1989; Nelson, 2013). Less negative $\delta^{13}C$, between -13.0 and $+1.0\text{‰}$, are signals for isotopically mixed feeders, while $\delta^{13}C$ values $+1.0\text{‰}$ and higher, would reflect a diet of pure grazing on C_4 grasses or sedges (MacFadden and Shockey, 1997; Cerling and Harris, 1999). Furthermore, Hattersley (1983) showed that the isotopic composition of C_4 grasses using NADP photosynthetic sub-pathway was systematically enriched in $\delta^{13}C$ by about $1 \pm 2\text{‰}$ (1σ) compared to grasses using NAD or PCK sub-pathway.

4. Hypsodonty

Among the different proxies used to identify grazer/browser, such as, cranial morphology, microwear, mesowear, etc., we find that Hypsodonty Index is a method of easy application and that in turn produce a great number of significant differences.

Tooth-crown height is a general indicator of mammalian herbivores diet and has been used to interpret ancient diets and habitats (Damuth and Janis, 2011), these inferences are based on

dental morphology of extant mammalian herbivores with known diets (Janis, 1988; MacFadden and Shockey, 1997).

In general, it has long been considered that ungulates with high-crowned teeth (hypsodont) are predominantly grazers, feeding primarily upon abrasive grasses (Damuth and Janis, 2011; Jardine et al., 2012), but regardless the proportion of grass in the diet, soil particles (dust and grit) adhering to the food surface are an important agents of abrasion (Jardine et al., 2012).

The standardized crown height for overall body mass has been found to be useful when comparing degrees of hypsodonty among species (Damuth and Janis, 2011). When referring to a particular degree of hypsodonty, it is based on a standardized index, the hypsodonty index (HI), which usually is expressed dimensionless (Janis, 1988). MacFadden and Shockey (1997) defined low-crowned or brachydont herbivores with a HI < 1 and high crowned or hypsodont with a HI between 1 and 3.

Hypsodont condition will be discussed in conjunction with isotopic results of *E. neogeus* and *H. principale* to evaluate, feeding ecology, presumed foodstuff, and associated environments. Additional information about the aforementioned topics is included in Supplemental online file.

5. Materials and methods

5.1. Materials

Abbreviations – FC-DPV: Colección Paleontológica (Vertebrados Fósiles) de la Facultad de Ciencias (Montevideo); MHD-P: Museo Histórico Departamental-Paleontología (Artigas); C: Colección Ghizzoni (Salto). IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry. IAEA: International Atomic Energy Agency.

Twenty-one enamel sample of *E. neogeus* and *H. principale* were taken for stable isotope analyses (Table 1) and stored at FC-DPV, MHD-P, and C collections in Uruguay. In four localities teeth of both species were collected spatially associated in the same bed (Table 1) which suggest sympatry. Eighteen teeth were suitable for hypsodonty measurements. Fossil specimens were well preserved and teeth do not present apparent diagenetic alterations such as carbonate or iron crust or evidences of abrasion by transport effect.

Table 1

List of the number of specimens and results of isotope analyses ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) of the specimens of *E. neogeus* and *H. principale*. * samples belong to juvenile specimens.

Catalogue	Sample tooth	Localities	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
<i>Equus neogeus</i>				
C 24–10	M1–2	Salto, Sopas Creek	–4.6	–0.8
C 43–14	M1–2	Salto, Arapey Grande River	–6.5	–1.4
C 45–13	m1–2	Salto, Arapey Grande River	–8.9	–1.5
C 47–28	M1	Salto, Arapey Grande River	–7.4	–1.5
C 52–1	M1–2	Salto, Arapey Chico River	–8.3	–0.2
C 54–10	m1–2	Salto, Arapey Grande River	–6.7	1.0
C 61–3	M1–2	Salto, de las Cañas Creek	–7.9	–0.3
FC-DPV 468	Molariform*	Tacuarembó, Malo Creek	–8.6	–1.6
FC-DPV 614	Molariform*	Salto, Sopas Creek	–7.7	–1.0
FC-DPV 1409	m1–2*	Salto, Sopas Creek	–11.7	–0.8
FC-DPV 2720	m1	Salto, Sopas Creek	–9.4	–0.9
FC-DPV 2935	Incisor	Salto, Itapebí Creek	–6.6	–1.9
MHD-P 153	m1*	Artigas, Cuareim River	–10.1	1.9
MHD-P 327	M1–2	Salto, Arapey Grande River	–5.2	1.9
FC-DPV 1626	M1–2	Tacuarembó, Malo Creek	–9.1	–1.3
<i>Hippidion principale</i>				
C 35–5	P3	Salto, Sopas Creek	–9.2	–2.9
FC-DPV 2409	M1–2	Salto, Arapey Chico River	–12.2	–3.2
FC-DPV 2441	M2*	Tacuarembó, Malo Creek	–11.8	–2.4
MHD-P 80	P3*	Artigas, Cuareim River	–11.3	–0.3
MHD-P 265	M1–2	Artigas, Cuareim River	–12.1	–1.1
C 22–3	M1–2	Salto, Sopas Creek	–10.7	–0.9

5.2. Methods

5.2.1. Isotopic sampling, pre-treatment and IRMS

The general method for stable isotope tooth enamel sampling follows Koch et al. (1997) and Balasse (2003), with minor changes. A 0.5 mm inverted cone carbide drill bit and a variable-speed dremely rotary tool was used to mechanically clean the enamel surface, remove cement and to take the samples. M1–2 were selected wherever possible, m1–2 and P3 were also sampled when M1–2 were not available, considering that they all have similar rate of tooth mineralization. Bulk samples of 3.5 cm in height and 2 mm wide were taken (covering a year of growing in equines), starting at the crown and along the non-occlusal surface parallel to the growth axis, except in FC-DPV 614 that only has 3.0 cm in height. This kind of sampling avoid seasonal differences that could influence isotopic result (Table 1, Supplemental online Tables 3 and 4). About 50 mg of powder was collected and grounded into finer powder using an agate mortar. The enamel samples prepared in this way provide an average isotopic signal for the tooth growth period of approximately one year.

Powder samples were pre-treated to remove organic contaminants and adsorbed carbonates according to the procedure of Koch et al. (1997) and Balasse, 2003 as follows: enamel powder was pre-treated in 2.0% sodium hypochlorite (NaOCl) for 24 h to oxidize and remove any possible organic contaminants. NaOCl was then decanted and rinsed five times with distilled water. After that, it was treated with 0.1 M acetic acid for another 24 h to dissolve and remove exogenous carbonate, rinsed five times with distilled water, and dried in an oven at 50 °C overnight after Balasse, 2003. These treatments sequentially used, remove organic matter and secondary adsorbed carbonates, without introducing significant isotopic fractionation and the adverse results are countered (Crowley, 2014; Pellegrini and Snoeck, 2016). The key to obtaining reliable results is the concentration consistency in the used solutions to sample and the time for each treatment step (Koch et al., 1997). The powder/solution ratio was kept constant to 0.04 g/ml for both treatments.

Pre-treatments and isotopic analyses were performed during an internship at SIL (Stable Isotope Laboratories (School of Environmental Sciences), University of East Anglia (UEA), England, by one of us (E.M.), following the protocols previously set.

The isotopic technique used was IRMS, which allows measuring isotopic fractionation, related to a standard previously established (VSMOW, VPDB). Carbon dioxide was obtained by reacting treated enamel aliquots (0.7 mg) with 100% H_3PO_4 for 24 h at 50 °C, before starting five measurement cycles of alternate sample and pattern of produced CO_2 isotopic composition. An Isotope Ratio Mass Spectrometer Europa SIRA hybrid (Series II VG Isogas Limited), with an on-line automated carousel and interfaced with an elemental Analyzer was used. Tooth enamel analyses were calibrated with International Standards (AIEA) Carrara Marble (CM, $\delta^{13}\text{C} = 1.9$ and $\delta^{18}\text{O} = -1.6$, VPDB) and NBS-19 ($\delta^{13}\text{C} = 1.9$ and $\delta^{18}\text{O} = -2.2$, VPDB), and ultimately with Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB), with a $\delta^{13}\text{C}$ value of 0.0‰ (Vienna convention; Coplen, 1994). All samples were run in duplicate and the reported results are the mean of them. The analytical precision for repeated analyses was 0.2‰. Carbon and oxygen isotopic ratios are reported in standard notation as $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$, relatively to VPDB and calculated in units of per mil (‰), which relate to international scales (Peterson and Fry, 1987). Results are reported relative to the isotope standard, using the notation (δ):

$$\delta = \left(\left[R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} \right] - 1 \right) \times 1000$$

where R sample and R standards are the ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$)

Table 2

A: mean values and univariate statistics for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values for late Pleistocene *E. neogeus* and *H. principale* analyzed in this study. SD: standard deviation (1σ). B: mean values for C3 percentage.

	A - Isotopes								B - Mixing model		
	$\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$				$\delta^{18}\text{O} \text{ ‰}$				C3%		
	min	Max	Mean	SD (1σ)	min	Max	Mean	SD (1σ)	min	Max	Mean
<i>E. neogeus</i>											
Adult enamel	-9.4	-4.6	-7.3	1.6	-2.9	1.9	-0.7	1.3	40	74	60
Juvenile enamel	-11.7	-7.7	-9.5	1.8	-1.6	1.9	-0.4	1.6	62	91	75
<i>H. principale</i>											
Adult enamel	-12.2	-9.2	-11.1	1.4	-3.2	-0.9	-2.0	1.2	73	94	86
Juvenile enamel	-11.8	-11.3	-11.6	0.4	-2.4	-0.3	-1.4	1.5	88	92	90

of the sample and standard relative to the international carbonate standard Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB).

5.2.2. Stable isotope mixing models (SIMMs)

SIMMs are tools to investigate the foraging ecology of extant and extinct animals (Hopkins and Ferguson, 2012). Bayesian SIMMs consists of a series of mathematical equations that allow fitting probability models to isotopic data and explain the isotopic composition of the observed consumer as a mixture of the assimilated diet based on isotopic mass balance (Hair et al., 2010; Phillips, 2012). If the limits of interpretation are simplified and the mean between $\delta^{13}\text{C}$ tooth enamel result and diet ($\delta^{13}\text{C}$ enamel - $\delta^{13}\text{C}$ diet) is used, a value of $\delta^{13}\text{C} = -13.0\text{‰}$ corresponds to 100% C₃ (browser guild) and $\delta^{13}\text{C} = +1.0\text{‰}$ correspond to 100% of C₄ (grazer guild). This simplification allows calculating the assimilated percentage of C₃ and C₄ foodstuff using mixing model equations for two preys (Phillips, 2012).

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{min}} = f_1 \cdot \delta^{13}\text{C}_1 + f_2 \cdot \delta^{13}\text{C}_2 \quad (1)$$

$$f_1 + f_2 = 1 \quad (2)$$

Equation (1) expresses consumer $\delta^{13}\text{C}$ (subscript mix) as a combination of the $\delta^{13}\text{C}$ of two preys (C₃ and C₄, subscripts 1 and 2), weighted by their diet fractions (f_1 and f_2 , respectively). The diet fractions are subject to the constraint that they sum = 1, equation (2). In mathematical terms, this system of two equations and two unknowns (f_1 and f_2) has a unique solution (Phillips, 2012). One way of solving is to algebraically rearrange the equations as in (3):

$$f_1 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{mix}} - \delta^{13}\text{C}_2}{\delta^{13}\text{C}_1 - \delta^{13}\text{C}_2} \quad (3)$$

$$f_2 = 1 - f_1 \quad (4)$$

With equation (4), f_2 value can be obtained and with f_2 , f_1 can be acquired (Supplementary 2). Quantitative analyses are carried out with Excel (2016), and Bayesian Mixing Model approach performed in R (Parnell et al., 2010) with R Core Team, 2019. (<http://cran.r-project.org/>).

5.2.3. Hypsodonty index

Ten adults and two juvenile teeth belong to *E. neogeus* and six to *H. principale* (four adults and two juvenile), previously sampled for isotopic analyses, were in good condition to make hypsodonty measurements (Supplementary Table 3). Height and length were taken from slightly to moderately worn molariforms. HI defined as H/L ratio was used, where H represents the height of the tooth without the root and L is the anteroposterior length of the same tooth measured on the occlusal surface, all dimensions are expressed in millimetres (MacFadden and Shockey, 1997).

6. Results

6.1. Isotopes and Bayesian SIMMs

Twenty-one new isotopic results ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) from northern Uruguay horses are reported here (Table 1, Fig. 3). The eleven enamel samples of adults *E. neogeus* exhibit $\delta^{13}\text{C}$ values between -9.4 and -4.6‰ (mean $-7.3 \pm 1.6\text{‰}$ (1σ)), $\delta^{18}\text{O}$ is from -1.9 to +1.9‰ (mean $-0.6 \pm 1.2\text{‰}$). The four enamel samples of juveniles show $\delta^{13}\text{C}$ between -11.7 and -7.7‰ (mean $-9.5 \pm 1.8\text{‰}$), $\delta^{18}\text{O}$ is mean $-0.4 \pm 1.6\text{‰}$ and range from -1.6 to +1.9‰ (Table 2).

Four enamel samples of adult *H. principale* show a $\delta^{13}\text{C}$ mean of $-11.1 \pm 1.4\text{‰}$ and range from -12.2 to -9.2‰, $\delta^{18}\text{O}$ is from -3.2 to -0.9‰ (mean $-2.0 \pm 1.2\text{‰}$). In juvenile data, the $\delta^{13}\text{C}$ average is $-11.6 \pm 0.3\text{‰}$, and yield a range from -11.8 to -11.3‰, $\delta^{18}\text{O}$ results are from -2.4 to -0.3‰ (mean $-1.4 \pm 1.5\text{‰}$) (Table 2).

When *E. neogeus* and *H. principale* $\delta^{13}\text{C}$ is transformed using Bayesian mixing models, it is possible to know in which range of the spectrum C₃–C₄ they fed (Table 2). Adult *E. neogeus* has a 60% mean of C₃ foodstuff, ranging from 40% to 74%, while adult *H. principale* mean is 86%, ranging from 73% to 94%. Juvenile data show lower $\delta^{13}\text{C}$ values, *E. neogeus* mean is 75%, ranging from 62% to 90%, while *H. principale* has a 90% mean and presents a less deviation, between 88% and 92% (Fig. 4).

6.2. Isotopes and hypsodonty

Adults of *E. neogeus* HI have similar values of M1-2 (2.39) and m1-2 (2.36), while in *H. principale* the P3-4 HI (1.91) is lower than M1-2 HI (2.14). (Table 3, Fig. 5). As expected, juveniles of both

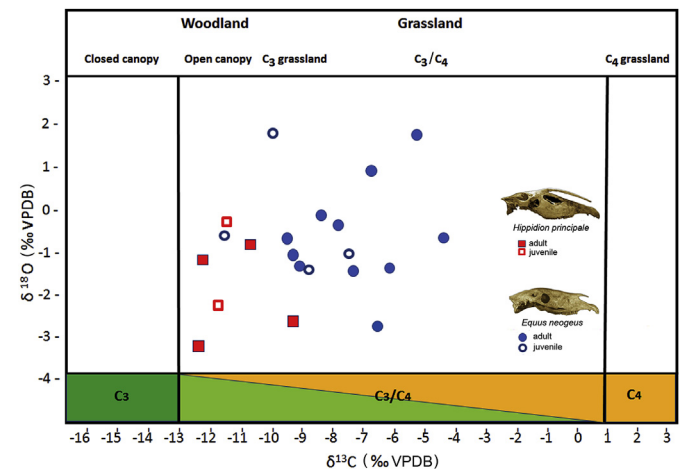


Fig. 3. Bivariate plot of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of *Equus neogeus* and *Hippidion principale* from northern Uruguay, indicating if horses were C₃, mixed or C₄ feeders.

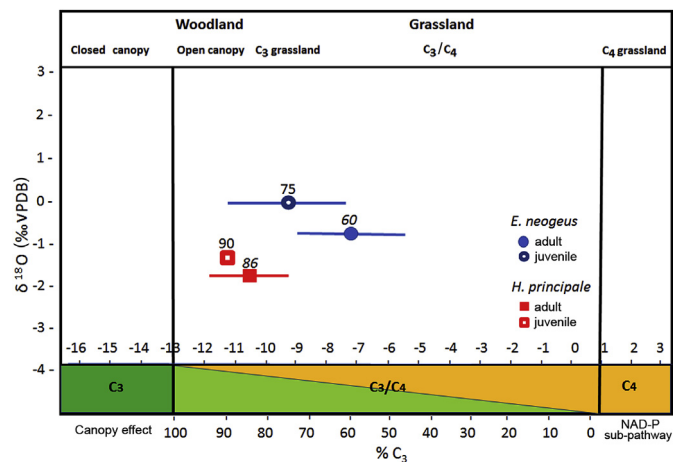


Fig. 4. Transformed $\delta^{13}\text{C}$ values in percentage of C_3 foodstuff using Bayesian mixing model for two preys. The adults of *E. neogeus* have a C_3 ranging between 40% and 74% and the juveniles from 62% to 91%. The adult of *H. principale* range between 73% and 94%, and the juvenile from 88% to 92%.

Table 3

Hypsodonty indices (HI) average of adults *E. neogeus* and *H. principale* by dental category. HI is dimensionless.

Tooth	N	min	X	MAX
<i>E. neogeus</i>				
M1-2	7	1.89	2.39	2.99
m1-2	3	2.03	2.36	2.75
<i>H. principale</i>				
P3-4	1		1.91	
M1-2	3	2.03	2.14	2.20

Table 4

Hypsodonty indices (HI) of *E. neogeus* and *H. principale* juveniles with isotopes results. HI is dimensionless.

Catalogue	Deciduous teeth	Height	Length	HI
<i>Equus neogeus</i>				
FC-DPV 468	M1-2	3.78	3.50	1.08
FC-DPV 614	M1-2	3.01	2.73	1.1
			Mean:	1.09
<i>Hippidion principale</i>				
MHD - P 80	P3	3.98	4.12	0.96
FC-DPV 2441	M1-2	3.55	3.34	1.06
			Mean:	1.01

species are less hypsodont than adult ones and have almost the same HI between them, *E. neogeus* HI is 1.09 and *H. principale* HI = 1.01 (Table 4; Fig. 5).

Owing to HI data set with isotopic results is small ($N = 2$) for both species, additional juvenile teeth of the same species and stratigraphic level have been measured and HI results do not differ to the ones reported here (Supplementary online, Table 4).

The HI values show that *E. neogeus* teeth, in general, are more hypsodont than those of *H. principale*, but both have slightly lower HI than those reported by Prado and Alberdi (2017). By the other hand, HI of *H. principale* is roughly similar to those obtained by MacFadden and Shockey (1997).

7. Discussion

7.1. Isotopes, adult and juvenile horses

The Sopas Formation was characterized by a mixed-fauna, with taxa belonging to different guilds related to a wide range of habitats in mid-latitudes of SA and most outcrops referred to MIS-3 (Ubilla

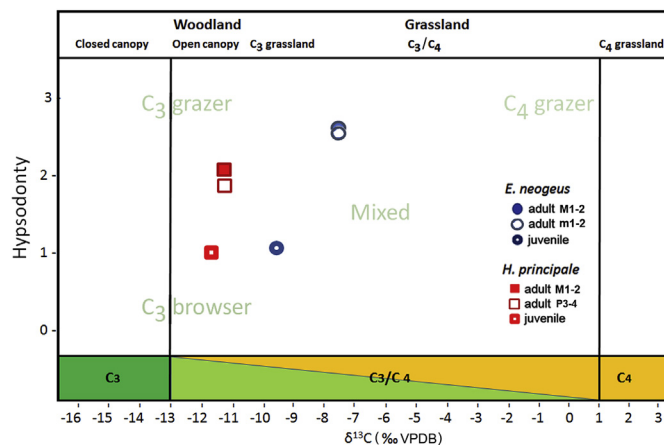


Fig. 5. Bivariate plot of average Hypsodonty Index (HI) versus pooled $\delta^{13}\text{C}$ mean, for the two taxa from northern Uruguay, showing how these two data sets can be used to discriminate among C_3 grazers, C_4 grazers, mixed, and C_3 browsers. Adult *E. neogeus* HI: M1-2 = 2.39, m1-2 = 2.36 and $\delta^{13}\text{C} = -7.3\text{‰}$. Juvenile HI = 1.09 and $\delta^{13}\text{C} = -9.6\text{‰}$. *H. principale* HI: M1-2 = 2.14, P3-4 = 1.85 and $\delta^{13}\text{C} = -11.0\text{‰}$ and juvenile HI = 1.01 and $\delta^{13}\text{C} = -11.6\text{‰}$. (Diagram based on MacFadden and Shockey, 1997).

et al., 2004, 2016; Morosi and Ubilla, 2018). This is the first isotopic study to be conducted with fossil horses in northern Uruguay, so it can be considered a pilot study. Although the number of *H. principale* sampled, in relation to those of *E. neogeus*, is relatively low, the results tend to confirm those obtained by other authors for this species (MacFadden et al., 1999; Prado and Alberdi, 2017 among others).

Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) are used to infer diets and understand mammalian assemblages and here are also used to perform an independent assessment of hypotheses based on morphological data.

E. neogeus is considered mostly as a grazer (Prado et al., 2011) and *H. principale* as a browser (Bernardes et al., 2013; Prado and Alberdi, 2017). Analyzing the isotopic data of adults of *E. neogeus*, $\delta^{13}\text{C}$ suggests a mixed diet with an important C_3 intake, between 40 and 74% (Table 2) and showing a great variation in the C_4 assimilation (depending on the individual), that could feed in open canopy wooded areas and C_3/C_4 grasslands but not assigned to C_4 grazers. Due to previous morphological data and the HI in M1-2 between 1.89 and 2.99, the C_3 component in the diet is assumed to belong mostly to C_3 grass, but other sources such as C_3 part plants or dust cannot be ignored.

Adults of *H. principale* show a more homogeneous $\delta^{13}\text{C}$, indicating a more restricted diet, with mixed-feeding preferences in open canopy woodlands with an almost full C_3 diet, reaching 94% of assimilation (Fig. 4). Regarding the morphological traits and HI in M1-2 between 2.03 and 2.20, C_3 plants would be its greatest intake, but it also could have eaten C_3 grass.

With reference to $\delta^{18}\text{O}$ lower values, in general, represent C_3 forest plants grown up in shaded areas and under less evaporative stress, whereas a higher $\delta^{18}\text{O}$ characterize more open habitats, where light and evaporative stress are higher (Van der Merwe and Medina, 1991; Bocherens and Drucker, 2013; Nelson, 2013). Following these interpretations and applied to ungulates (França et al., 2014; Morosi and Ubilla, 2018), sympatric mammals with C_3 plants in their diet, can be differentiated by $\delta^{18}\text{O}$ values in categories, having forest floor plants consumers a $\delta^{18}\text{O}$ more negative than -13‰ (Nelson, 2013). Considering that *E. neogeus* and *H. principale* have been sympatric and if the $\delta^{18}\text{O}$ values would have mostly depended on drinking water, the $\delta^{18}\text{O}$ should have been similar in both species, but a difference in $\delta^{18}\text{O}$ have been found.

The average $\delta^{18}\text{O}$ in *H. principale* is -2.0‰ , indicating that mostly fed on forest C_3 floor grass and plants, while *E. neogeus* has higher $\delta^{13}\text{C}$ and a $\delta^{18}\text{O} = -0.6\text{‰}$, suggesting that the C_3 component (mean = 60%), was mostly attributable to C_3 grassland grass (Table 2, Fig. 3).

The assumption of sympatry of both horses could be supported since they show different feeding strategies and can be discriminate in different guilds. The environments inferred with regard to *E. neogeus* and *H. principale*, which include open canopy woodlands to semi-open grasslands, tend to support the diverse habitats of the mammal assemblage developed at mid-latitudes of SA represented in the beds of the Sopas Formation of northern Uruguay. It is very likely that the short-term climatic oscillations during late Pleistocene could have change the vegetation, but not more than the C_3/C_4 proportion of available grass, increasing one or another, but not replaced them, as it was proposed for southern Brazil “campos” (Ledru et al., 1996; Behling et al., 2004; França et al., 2015).

7.2. Maternal effect

When isotopic data belonging to juveniles are analyzed and related to adults mean values, both species show a shift toward more depleted $\delta^{13}\text{C}$ and more enriched $\delta^{18}\text{O}$ (Table 2, Fig. 6A).

Three possible explanations could be invoked in order to explain this variation. First, juveniles could have remained in more protected wooded areas and eat foodstuff grown up under the canopy, with an already $\delta^{13}\text{C}$ depleted. Second, juveniles during and after weaning could have eaten selectively more C_3 grass than adults, due to in general C_3 grass are more tender than C_4 , and mammal herbivores prefer them when are available (Anderson, 2006). The third and most parsimonious explanation could be “maternal effect”, which represents gestation and the feeding on maternal milk (Chinique de Armas et al., 2017; Dupras and Tocheri, 2007; Wright and Schwarcz, 1998; Witt and Ayliffe, 2001). In mammals, depending on the ontogenetic stages, tissues formed during gestation or the suckling time of life, such as deciduous teeth and first molars, can have different isotopic signatures relative to the teeth formed after weaning (Bocherens and Drucker, 2013; Dupras and Tocheri, 2007; Lopez et al., 2013).

Maternal milk also exhibits different isotopic composition from the average adult diet, with more positive $\delta^{18}\text{O}$ values (Wright and Schwarcz, 1998; Bocherens and Drucker, 2013) and it has been suggested that part of the $\delta^{13}\text{C}$ depletion in juveniles occurs since milk is not fractionated in the same way as plant-derived carbon during assimilation into skeletal tissue (Witt and Ayliffe, 2001). The maternal effect can be applied to both species, but not completely discarding that juvenile remained in forested areas or had a selective feeding. If the maternal effect is taken into account, isotopic juvenile data show values more similar to adults of the same species (Fig. 6 B and C).

These results have implications in palaeoecological studies, where fossil skeletal tissues are used as a dietary or environmental proxy, particularly if the relative ontogenetic age of sampled specimens is unknown.

7.3. Isotopes and hypsodonty

Hypsodonty Index has demonstrated to be a good tool to separate isotopic results in different guilds (browser, mixed-browser, mixed-grazer or grazer) since this variable produced a great number of significant differences. Traditional correlations of HI and paleodiet inferred that *E. neogeus* with high-crowned teeth was a specialized grazer (Prado et al., 2011), while *H. principale*, less hypsodont, were more browsing adapted (MacFadden and Shockey, 1997).

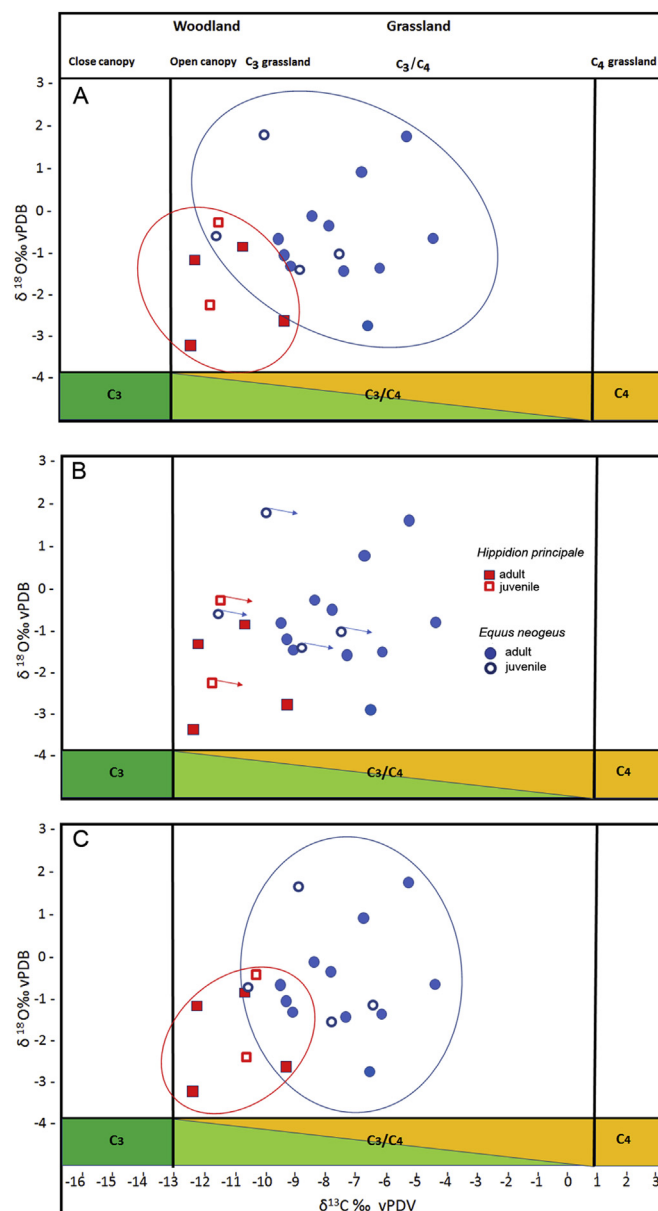


Fig. 6. Maternal effect. A: $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of adults and juveniles, B: maternal effect is taken into account, isotopic values shift toward less depleted $\delta^{13}\text{C}$ and lower $\delta^{18}\text{O}$. C: *E. neogeus* and *H. principale* showing smaller overlap areas after taking into account maternal effect.

A bivariate plot of pooled HI versus pooled $\delta^{13}\text{C}$, distinguish these two horses with a high content of C_3 foodstuff in the diet in different guilds, indicating niche separation based on their feeding preferences (Fig. 5). The $\delta^{13}\text{C}$ less depleted and relatively hypsodont adult *E. neogeus*, with an HI between 1.89 and 2.99 in M1–2, suggest a mixed-grazer diet. Adult *H. principale*, with an HI between 2.03 and 2.20 in M1–2 and more depleted $\delta^{13}\text{C}$, suggest a mixed-browser diet (Table 3) and its skull and dental morphology allowed it to consume leaves, branches, roots and other parts of C_3 plants (MacFadden and Shockey, 1997).

Regarding HI, it is also being considered the level to the ground where horses fed, and if it was in a forest, wet area or in a dry environment with dust and grit (Jardine et al., 2012). *E. neogeus* would have fed in a drier environment with grasses near the ground, which contain more dust and grit than *H. principale*, which

would have fed in forest protected and wetter areas.

Deciduous teeth are morphologically different compared with adult dentition, they are elongated and have a characteristic “square shape” in lateral view (Supplementary, Fig. 1), some of them are very fragile and in general, when they are found isolated the roots are missing. Juveniles, as expected, are less hypsodont and do not reflect the differences show in adults. HI of *E. neogeus* and *H. principale* juveniles plot together, sharing ontogenetic characteristics and have more in common between them than with the adults of its own species. Based only in HI and $\delta^{13}\text{C}$ it is difficult to differentiate the species, therefore, dentition morphology and other proxies shared with adult forms should be used.

MacFadden et al. (1999) and Prado and Alberdi (2017) have found that in the late Pleistocene (sensu lato) *E. neogeus* has a wide range of $\delta^{13}\text{C}$, indicating that at high latitude foraged on C_3 grasslands and wooded areas and in low latitudes fed on C_4 prairies. *H. principale* shows lower $\delta^{13}\text{C}$, indicative of a more restricted diet on woodlands or wooded C_3 open areas, independent of latitude. Our data support in some extent these finding and provided new information. The combination of stable isotopes and HI results, show that in the northern Uruguay, *E. neogeus* had a mixed-grazer feeding strategy with predominance of C_3 plants from open woodland and C_3 – C_4 grasslands. Conversely, *H. principale*, that also has a high content of C_3 in the diet, was a mixed-feeder that ate mostly from open forest floor grass and could browse on plants.

8. Conclusions

E. neogeus and *H. principale* from late Pleistocene at mid-latitudes of SA (northern Uruguay), were mixing feeders with high consumption of C_3 plants.

E. neogeus was a mixed-grazer with a great amount of C_3 grasses from open canopy woodland to C_3 and C_4 prairies, while *H. principale* shows preferences for a mixed diet, with foodstuff grown up (grass and part of plants like leaves and twigs) in environments of open canopy woodland. The obtained isotopic and HI data could explain this co-occurrence, due to a combination of feeding strategies and habitat preferences that resulted in niche differentiation.

The isotopic shift seen in juveniles could be explained by maternal effect and/or the search for shelter and selected feeding on C_3 grasses. When the maternal effect is taking into account, juveniles isotopic results are similar to those of adults. Data about juvenile fossil horses are significant, due to there are few studies in SA and the information is extremely scarce. In view of its implications should be more studied.

The distinct carbon isotopic values from both species suggest (in northern Uruguay, between 50 and 30 kyr B.P.) an open C_3 – C_4 grassland environment with patches of open canopy forests. This data supports the diversity of habitats previously proposed –a grassland environment spotted with dense woodlands near rivers and creeks– and corroborate the environmental context associated to the mammal assemblage in late Pleistocene at these latitudes of South America.

Funding

This work was supported by: CSIC, Uruguay, grant [Project 260-348, 2014] (E.M.); ANII, Uruguay and British Council through British Embassy in Uruguay, 2015 (E.M.); PEDECIBA (PhD Thesis Grant and Internship 2016, (E.M.)); ANII, Uruguay, NAC-DOC grant [2016-1-130352], (E.M.); CSIC, Uruguay, [Project C-211-348] (M.U.)

Declaration of competing interest

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Acknowledgements

Curators of collections Alejandra Rojas (FC-DPV), Jose Soloviy (MHD-P) and Martin Ghizzoni (C) allow us to study the material, and Paul Dennis and Alina Marca from SIL (University of East Anglia). Two anonymous reviewers significantly improve the manuscript.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>.

References

- Anderson, R.C., 2006. Evolution and origin of the central grassland of North America: climate, fire, and mammalian grazers. *J. Torrey Bot. Soc.* 133 (4), 626–647.
- Balasse, M., 2003. Potential biases in sampling design and interpretation of intra-tooth isotope analysis. *Int. J. Osteoarchaeol.* 13, 3–10.
- Behling, H., DePatta Pillar, V., Orlochi, L., Girardi Bauermann, S., 2004. Late Quaternary Araucaria forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics, studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambara do Sul core in southern Brazil. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 203, 277–297.
- Bender, M.M., 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry* 10 (6), 1239–1244.
- Bernardes, C., Sicuro, F.L., Avilla, L.S., Pinheiro, A.E.P., 2013. Rostral reconstruction of South American hippidiform equids: new anatomical and ecomorphological inferences. *Acta Palaeontol. Pol.* 58 (4), 669–678.
- Bocherens, H., Drucker, D.G., 2013. Terrestrial teeth and bones. In: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1. Elsevier, Amsterdam, pp. 304–314.
- Cabrera, F., Martínez, S., Ubilla, M., 2018. New radiocarbon AMS ages on mollusks from the Sopas Formation (Pleistocene, Uruguay) and a new continental Holocene record for Uruguay. *V Int. Paleontol. Congr.* 1032 (Paris).
- Cerling, T.E., Harris, J.M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120 (3), 347–363.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation changes through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389 (6647), 153–158.
- Chinique de Armas, Y., Roksandic, M., Nikitović, D., Rodriguez Suarez, R., Smith D, Kanik N., et al., 2017. Isotopic reconstruction of the weaning process in the archaeological population of Canimar Abajo, Cuba: a Bayesian probability mixing model approach. *PLoS One* 12 (5), e0176065. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176065>.
- Cione, A., Gasparini, G., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Tonni, E.P., 2015. The Great American Biotic Interchange. A South American Perspective. Springer Briefs in Earth System Sciences, London.
- Coplen, T.B., 1994. Reporting of stable hydrogen, carbon, and oxygen isotopic abundances. *Pure Appl. Chem.* 66 (2), 273–276.
- Crowley, B.E., 2014. Oxygen isotope values in bone carbonate and collagen are consistently offset for New World monkeys. *Biol. Lett.* 10, 20140759. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0759>.
- Damuth, J., Janis, C.M., 2011. On the relationship between hypsodonty and feeding ecology in ungulate mammals and its utility in palaeoecology. *Biol. Rev.* 86, 733–758.
- Dantas, M.A.T., Cherkinsky, A., Bocherens, H., Drefahl, M., Bernardes, C., França, L.M., 2017. Isotopic paleoecology of the Pleistocene megamammals from the Brazilian Intertropical Region: feeding ecology ($\delta^{13}\text{C}$), niche breadth and overlap. *Quat. Sci. Rev.* 170, 152–163.
- Der Sarkissian, C., Vilstrup, J., Schubert, M., Seguin-Orlando, A., Eme, D., Weinstock, J., Alberdi, M.T., Martin, F., Lopez, P.M., Prado, J.L., 2015. Mitochondrial genomes reveal the extinct *Hippidion* as an outgroup to all living equids. *Biol. Lett.* 11 <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.1058>.
- Dupras, T.L., Tocheri, M.W., 2007. Reconstructing infant weaning histories at Roman period Kellis, Egypt using stable isotope analysis of dentition. *Am. J. Phys. Anthropol.* <https://doi.org/10.1002/ajpa.20639>.
- Ehleringer, J.R., Field, C.B., Lin, Z.F., Kuo, C.Y., 1986. Leaf carbon isotope and mineral composition in subtropical plants along an irradiance cline. *Oecologia* 70 (4), 520–526.
- Ehleringer, J.R., Sage, R.F., Flanagan, L.B., Pearcy, R.W., 1991. Climate change and the evolution of C_4 photosynthesis. *Trends Ecol. Evol.* 6 (3), 95–99.

- França, L.M., Dantas, M.A.T., Bocchiglieri, A., Cherkinsky, A., de Souza Ribeiro, A., Bocherens, H., 2014. Chronology and ancient feeding ecology of two upper Pleistocene megamammals from the Brazilian Intertropical Region. *Quat. Sci. Rev.* 99, 78–83.
- França, L.M., de Acevedo, L., Dantas, M.A.T., Bocchiglieri, A., Dos Santos Avilla, L., Pereira Lopez, R., Lopez da Silva, J.L., 2015. Review of feeding ecology data of Late Pleistocene mammalian herbivores from South America and discussions on niche differentiation. *Earth Sci. Rev.* 140, 158–165.
- Friedli, H., Lotscher, H., Oeschger, H., Siegenthaler, U., Stauffer, B., 1986. Ice core record of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of atmospheric carbon dioxide in the past two centuries. *Nature* 324, 237–238.
- Hattersley, P.W., 1983. $\delta^{13}\text{C}$ values of C_4 types in grasses. *Aust. J. Plant Physiol.* 9 (2), 139–154.
- Hopkins III, J.B., Ferguson, J.M., 2012. Estimating the diets of animals using stable isotopes and a comprehensive Bayesian mixing model. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028478>.
- Janis, C.M., 1988. An estimation of tooth volume and hypsodonty indices in ungulate mammals, and the correlation of these factors with dietary preferences. In: Russell, D.E., Santoro, J.P., Sigogneau-Russell, D. (Eds.), *Teeth Revisited. Proceedings of the VII Th International Symposium on Dental Morphology*, Mus. Nat. Hist. Nat., Paris, Series C, Paris, France., pp. 367–387.
- Jardine, P., Janis, C., Sahney, S., Benton, M., 2012. Grit no grass: concordant patterns of early origins of hypsodonty in Great Plains ungulates and Glires. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 365, 1–10.
- Keeling, C., Piper, S., Whorf, T., Keeling, R., 2011. Evolution of natural and anthropogenic fluxes of atmospheric CO_2 from 1957 to 2003. *Tellus* 63B, 1–22.
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *J. Archaeol. Sci.* 24 (5), 417–429.
- Ledru, M.P., Soares Braga, P.I., Soubies, F., Fournier, M., Martin, L., Suguio, K., Turcq, B., 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): evolution of vegetation and climate. *Palaeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.* 123, 239–257.
- Lopez, R., Ribeiro, A., Rebello, S., Schultz, C., 2013. Late middle to late Pleistocene paleoecology and paleoenvironments in the coastal plain of Rio Grande do Sul State, Southern Brazil, from stable isotopes in fossils of *Toxodon* and *Stegomastodon*. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 369, 385–394.
- MacFadden, B.J., 2013. Dispersal of Pleistocene *Equus* (family equidae) into South America and calibration of GABI 3 based on evidence from Tarija, Bolivia. *PLoS One* 8 (3), e59277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059277>.
- MacFadden, B.J., Shockey, B., 1997. Ancient feeding ecology and niche differentiation of Pleistocene mammalian herbivores from Tarija, Bolivia: morphological and isotopic evidence. *Paleobiology* 23, 77–100.
- MacFadden, B.J., Cerling, T.E., Harris, J.M., Prado, J., 1999. Ancient latitudinal gradients of C_3/C_4 grasses interpreted from stable isotopes of New World Pleistocene horse (*Equus*) teeth. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 8 (2), 137–149.
- Machado, H., Grillo, O., Scott, E., Avilla, L., 2018. Following the footsteps of the South American *Equus*: are autopodia taxonomically informative? *J. Mamm. Evol.* 25 (3), 397–405.
- Manzuetti, A., Perea, D., Ubilla, M., Rinderknecht, A., 2018. First record of *Smilodon fatalis* Leidy, 1869 (Felidae, Machairodontinae) in the extra-andean region of South America (late Pleistocene, Sopas Formation), Uruguay: taxonomic and paleobiogeographic implications. *Quat. Sci. Rev.* 180, 57–62.
- Morosi, E., Ubilla, M., 2018. Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Liptopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). *Hist. Biol.* 31, 196–202.
- Nelson, S.V., 2013. Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 280 (1773), 20132324.
- Orlando, L., Male, D., Alberdi, M., Prado, J., Prieto, A., Cooper, A., Hanni, C., 2008. Ancient DNA clarifies the evolutionary history of American latepleistocene equids. *J. Mol. Evol.* 66, 533–538.
- Parnell, A.C., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A.L., 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One* 5 (3), e9672.
- Pellegrini, M., Snoeck, C., 2016. Comparing bioapatite carbonate pre-treatments for isotopic measurements: Part 2 — impact on carbon and oxygen isotope compositions. *Chem. Geol.* 420, 88–96.
- Pérez-Crespo, V., Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2018. Stable isotopes and diets of Pleistocene horses from southern North America and South America: similarities and differences. *Palaeobiodivers. Palaeoenvir.* 98 (4), 663–674.
- Peterson, B., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Systemat.* 18 (1), 293–320.
- Phillips, D., 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing models. *J. Mammal.* 93 (2), 342–352.
- Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2017. *Fossil Horses of South America. The Latin American Studies Book Series*. Springer Nature, Switzerland.
- Prado, J.L., Sanchez, B., Alberdi, M.T., 2011. Ancient feeding ecology inferred from stable isotopic evidence from fossil horses in South America over the past 3 Ma. *BMC Ecol.* 1–13, 2011.
- R Core Team, 2019. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Ubilla, M., Martinez, S., 2016. *Geology and Paleontology of the Quaternary of Uruguay*. Springer Briefs in Earth System Sciences, New York (NY) (Switzerland).
- Ubilla, M., Perea, D., Goso, C., Lorenzo, N., 2004. Late Pleistocene vertebrates from northern Uruguay: tools for biostratigraphic, climatic and environmental reconstruction. *Quat. Int.* 114, 129–142.
- Ubilla, M., Corona, A., Rinderknecht, A., Perea, D., Verde, M., 2016. Marine isotope stage 3 (MIS 3) and continental beds from northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini, G., Rabassa, J., Deschamps, M., Tonni, E. (Eds.), *Marine Isotope Stage 3 in Southern South America, 60 Ka BP–30 Ka BP. Serie Springer Earth System Sciences*, pp. 183–205.
- Van der Merwe, N.J., Medina, E., 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochim. Cosmochim. Acta* 53 (5), 1091–1094.
- Van der Merwe, N.J., Medina, E., 1991. The canopy effect, carbon isotope ratios and food webs in Amazonia. *J. Archaeol. Sci.* 18 (3), 249–259.
- Witt, G.B., Ayliffe, L.K., 2001. Carbon isotope variability in the bone collagen of red kangaroos (*Macropus rufus*) is age dependent: implications for palaeodietary studies. *J. Archaeol. Sci.* 28, 247–252.
- Wright, L.E., Schwarcz, H.P., 1998. Stable carbon and oxygen isotopes in human tooth enamel: identifying breastfeeding and weaning in prehistory. *Am. J. Phys. Anthropol.* 106 (1), 1–18.

SUPPLEMENTARY CAPÍTULO 7.

Feeding and environmental studies on Late Pleistocene horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay).

Elizabeth Morosi and Martin Ubilla
Facultad de Ciencias, Dpto. Paleontología, ICG, Universidad de la Republica, Iguá 4225
Montevideo, 11400, Uruguay.

Supplementary 1

ID lab.	Sample	Locality	14C age (14C ka BP)	Calibr. age (cal ka BP)
AA108858	<i>Cyanocyclas limosa</i> *	Itapebi River	41,900 ± 1,500	48.9 – 43.1
AA104911	<i>Cyanocyclas</i> sp.**	Malo Creek	39,900 ± 1,100	45.4 – 42.0
AA104913	<i>Pomacea</i> sp.**	Malo Creek	38,300 ± 940	43.9 – 40.9
AA104914	<i>Pomacea</i> sp.**	Malo Creek	37,070 ± 810	42.7 – 39.9
AA101329	<i>Pomacea</i> sp.**	Malo Creek	35,530 ± 680	41.4 – 38.7
AA104915	<i>Pomacea</i> sp.**	Malo Creek	33,560 ± 700	39.4 – 36.1

Table 1. Bivalve shell AMS Radiocarbon (14C ka BP) and calibrated ages (cal ka BP) for Itapebi River and Malo Creek. * from Cabrera et al. (2018); ** from Ubilla et al. (2016).

ID lab.	Locality	OSL age (ka)	OSL range
LVD-647	Sopas Creek	43.5 ± 3.6	47.1 – 40.0
LVD-2661	Arapey Chico River	36.9 ± 6.5	43.4 – 30.4
UIC-3332	Malo Creek	34.4 ± 2.2	36.6 – 32.2
UIC-3451	Malo Creek	33.0 ± 1.9	34.9 – 31.1
UIC-3458	Malo Creek	32.85 ± 2.0	34.8 – 30.9

Table 2. OSL ages (ka) for Sopas Creek, Arapey Chico River and Malo Creek localities. From Ubilla et al., 2016.

Supplementary 2.- SIMMs Bayesian Mixing Models.

Mathematical development. Percentage of C₃ foodstuff in the diet.

***E. neogeus*C₃ = 60 %.**

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{mix}} (\text{prom}) = -7.33\text{‰} \quad (1)$$

$$\text{C}_3 = \delta^{13}\text{C}_1 = -13.00\text{‰} \quad (2)$$

$$\text{C}_4 = \delta^{13}\text{C}_2 = +1.00\text{‰} \quad (3)$$

$$f_1 = \frac{-7.33 - (+1.00)}{-13.00 - (+1.00)} = 0.60 \longrightarrow \text{C}_3 = 60\% \quad (4)$$

$$f_2 = 1 - 0.60 = 0.40 \longrightarrow \text{C}_4 = 40\% \quad (5)$$

48

49 ***H. principale* $C_3 = 86 \%$.**

50 $\delta^{13} C_{\text{mix}} (\text{prom}) = -11.10\text{‰} \quad (1)$

51 $C_3 = \delta^{13} C_1 = -13.00\text{‰} \quad (2)$

52 $C_4 = \delta^{13} C_2 = +1.00\text{‰} \quad (3)$

53

54

55 $f_1 = \frac{-11.10 - (+1.00)}{-13.00 - (+1.00)} = 0.86 \longrightarrow C_3 = 86 \% \quad (4)$

56

57

58

59 $f_2 = 1 - 0.86 = 0.14 \longrightarrow C_4 = 14 \% \quad (5)$

60

61

Supplementary 3. Hypsodonty



Figure 1. FC-DPV 468 molariforms belonging to juvenile *Equus neogeus*.

70

71

Taxon	Localities	Tooth	Height (mm)	Length (mm)	HI
<i>Equus neogeus</i> (Adult)					
C 24 – 10	Salto, Sopas Creek	M1-2	67.8	26.7	2.54
C 43 - 14	Salto, Arapey Grande River	M1-2	54.4	24.5	2.22
C 47 - 28	Salto, Arapey Grande River	M1	65.5	23.2	2.82
C 52 – 1	Salto, Arapey Chico River	M1-2	47.9	25.3	1.89
MHD - P 327	Salto, Arapey Grande River	M1-2	74.8	25.0	2.99
C 61 – 3	Salto, De las Cañas Creek	M1-2	65.8	28.0	2.35
FC-DPV 1626	Tacuarembó, Malo Creek	M1-2	52.9	27.1	1.95
C 45 - 13	Salto, Arapey Grande River	m1-2	48.9	24.1	2.03
C 54 - 10	Salto, Arapey Grande River	m1-2	70.4	25.6	2.75
FC-DPV 2720	Salto, Sopas Creek	m1	65.4	28.3	2.31
<i>Hippidion principale</i> (Adult)					
C 35-5	Salto, Sopas Creek	P3	58.2	30.5	1.91
C 22 – 3	Salto, Sopas Creek	M1-2	54.2	24.6	2.20
FC-DPV 2409	Salto, Arapey Chico River	M1-2	80.3	39.5	2.03
MHD - P 265	Artigas, Cuareim River	M1-2	66.0	30.1	2.19
<i>Equus neogeus</i> (juvenile)					
FC-DPV 468	Tacuarembó, Malo Creek	Molariform	37.8	35.0	1.08
FC-DPV 614	Salto, Sopas Creek	Molariform	30.1	27.3	1.10
<i>Hippidion principale</i> (juvenile)					
FC-DPV 2441	Tacuarembó, Malo Creek	M2	35.5	33.4	1.06
MHD - P 80	Artigas, Cuareim River	P3	39.8	41.2	0.96

72

73 Table 3. Hypsodonty Index of *E. neogeus* and *H. principale*, adults and juveniles from Sopas
74 Formation, northern Uruguay.

75

Catalogue	Deciduos teeth	Height (mm)	Length (mm)	HI
<i>Equus neogeus</i>				
FC-DPV 468	Molariform	37.8	35.0	1.08
FC-DPV 614	Molariform	30.1	27.3	1.10
C 73 - 2*	P3	34.0	31.2	1.09
C 48 - 2*	M1-2	34.0	32.2	1.06
FC-DPV 743*	Molariform	34.8	30.9	1.13
Mean:				1.09
<i>Hippidion principale</i>				
MHD - P 80	P3	39.8	41.2	0.96
FC-DPV 2441	M1-2	35.5	33.4	1.06
C 62 - 6*	M1	44.5	50.4	0.88
Mean:				0.97

77

78 Table 4. Juvenile HI mean of *E. neogeus* and *H. principale*. * Specimens without isotopic analyses.

79

80

81 **Supplementary 4. Additional References**

82

83 Alberdi, MT., 1974. El género *Hipparion* en España. Nuevas formas de Castilla y
84 Andalucía, revisión e historia evolutiva. *Trabajos Neógeno Cuaternario*, 1:
85 1-146.

86 Alberdi, MT., Prado, J.L., Favier-Dubois, C.M., 2006. Nuevo registro de *Hippidion*
87 *principale* (Mammalia, Perissodactyla) del Pleistoceno de Mar del Sur,
88 Argentina. *Revista Española de Paleontología*, **21**, 105-113.

89 Álvarez, B.B., 1974. Los mamíferos fósiles del Cuaternario de Arroyo Toropi,
90 Corrientes (Argentina). *Ameghiniana*. 11:295–311.

91 Álvarez–Romero, J., Medellín, R.A., 2005. *Equus burchellii*. Vertebrados
92 superiores exóticos en Mexico: diversidad, distribución y efectos

93 potenciales: Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de
94 Mexico. Bases de datos SNIB – CONABIO, Proyecto U020, Mexico, D.
95 F: 7.

96 Ambrose, S.H., DeNiro, M.J., 1986. The isotopic ecology of East African
97 mammals. *Oecologia*. 69(3):395–406.

98 Beaver, E.A., Brussard, P.F., 2004. Community–and landscape–level
99 responses of reptiles and small mammals to feral–horse grazing in the
100 Great Basin: *J Arid Environ*. 59:271-297.

101 Bocherens, H., Koch, P.L., Mariotti, A., Geraads, D., Jaeger, J.J., 1996. Isotopic
102 biogeochemistry ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$) of mammalian enamel from African
103 Pleistocene hominid sites. *Palaios*. 11:306–318

104 Cerling, T.E., Wang, Y., Quade, J., 1993, Expansion of C4 global ecological
105 change in the Late Miocene: *Nature*, 361, 344-345.

106 Cerling, T.E., Hart J.A., Hart, T.B., 2004. Stable isotope ecology in the Ituri
107 forest *Oecologia*. 138(1):5–12.

108 Coplen, T., 1988, Normalization of oxygen and hydrogen isotope data:
109 *Chemical Geology, (Isotope Geoscience Section)*, 72, 293-297.

110 Coplen, T., Brand, W.A., Gehre, M., Gröning, M., Meijer Harro, A.J., Toman, B.,
111 Verkouteren, R.M., 2006, New Guidelines for $\delta^{13}\text{C}$ Measurements: *Analytical*
112 *Chemistry*, 78, 2439-2441.

113 Crowley, B.E., 2014. Oxygen isotope values in bone carbonate and collagen
114 are consistently offset for New World monkeys. *Biol Lett*. 10:20140759.
115 Available from: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0759>

116 Dantas, M.A.T., Dutra, R.P., Cherkinsky, A., Fortier, D.C., Kamino, L.H.Y., Cozzuol,
 117 M.A., Vieira, F.S., 2013. Paleoecology and radiocarbon dating of the
 118 Pleistocene megafauna of the Brazilian Intertropical Region. Quat Res.
 119 79(01):61–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yqres.2012.09.006>
 120 Domingo, L., Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2012. The effect of paleoecology and
 121 paleobiogeography on stable isotopes of Quaternary mammals from
 122 South America. Quat Sci Rev. 55:103–113.
 123 Drucker, D., Bocherens, H., Bridault, A., Billiou, D., 2003. Carbon and nitrogen
 124 isotopic composition of red deer (*Cervus elaphus*) collagen as a tool for
 125 tracking palaeoenvironmental change during the Late-Glacial and Early
 126 Holocene in the northern Jura (France). Palaeogeogr Palaeoclimatol
 127 Palaeoecol. 195(3–4):375–388.
 128 Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T., 1989. Carbon isotope discrimination
 129 and photosynthesis. Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol. 40: 503-37.
 130 Feranec, R.S., MacFadden, B.J., 2000, Evolution of the grazing niche
 131 in Pleistocene mammals from Florida: evidence from stable
 132 isotopes: Palaeog, Palaeoc, Palaeoec, 162, 155-169.
 133 Feranec, R.S., MacFadden, B.J., 2006, Isotopic discrimination of resource
 134 partitioning among ungulates in C3-dominated communities from the Miocene
 135 of Florida and California: Paleobiology, 32(2), 191-205.
 136 Francey, R.J., Allison, C.E., Tudinger, C.M., Langenfelds, R.L., 1999. A 1000-
 137 year high precision record of $\delta^{13}\text{C}$ in atmospheric CO_2 .
 138 Goin, F.J., Gelfo, J., Chornogubsky, L., Woodburne, M., Martin, T., 2012.
 139 Origins, radiations and distribution of South American mammals: from

140 Greenhouse to Icehouse worlds. In: Patterson B, Costa L, editors. Bones,
 141 clones and biomes. The history and geography of recent neotropical
 142 mammals. Chicago, IL: The University of Chicago Press; p. 20–50.
 143 Hillson, S., 1986. Teeth. Cambridge: Cambridge Univ. Press; p. 376.
 144 Hofmann, R.R., Stewart, D.R.M., 1972. Grazer or browser: a classification
 145 based on the stomach-structure and feeding habits of East African
 146 ruminants. *Mammal*. 36(2):226–240
 147 Jain, A.K., Kheshgi, H.S., Caldeira, K., Hoffert, M.I., Wuebbles, D.J., 1994.
 148 Evaluation of $\delta^{13}\text{C}$ of atmospheric carbon dioxide with a schematic carbon
 149 cycle model. *American Geophysical Union Fall Meeting, EOS Supplement 75*, 152-
 150 153.
 151 Jouzel, J., et al., 2007. Orbital and Millennial Antarctic Climate Variability over the
 152 Past 800,000 Years. *Science* 317, 793. DOI: 10.1126/science.1141038.
 153 Keeling, C.D., Mook, W.G., Tans, P., 1979. Recent trends in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of
 154 atmospheric carbon dioxide. *Nature* 277, 121-123.
 155 Keeling, C.D., Bacastow, R.B., Tans, P., 1980. Predicted shift in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio
 156 of atmospheric carbon dioxide. *Geophys. Res. Lett.* 1, 505-508.
 157 Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The Effects of Sample Treatment and
 158 Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite.
 159 *J Archae Scien* 24, 417-429.
 160 Kohn, M.J., Schoeninger, M.J., Valley, J.W., 1996. Herbivore tooth oxygen
 161 isotope compositions: effects of diet and physiology. *Geochim*
 162 *Cosmochim Acta*. 60(20):3889–3896.
 163 Kohn, M.J., Schoeninger, M.J., Valley, J.W., 1998. Variability in oxygen

164 isotope compositions of herbivore teeth: reflections of seasonality
 165 or developmental physiology? *Chemical Geology*, 152, 97-112.
 166 Kohn, M.J., McKay, M.P., Knight, J.L., 2005. Dinning in the Pleistocene. Who's on
 167 the menu? *Geology*, 33, 649-652. Kohn, M.J., 1996, Predicting animal $\delta^{18}\text{O}$:
 168 accounting for diet and physiological adaptation: *Geochem Cosmochim Acta*,
 169 60, 4811-4829.
 170 MacFadden, B.J., 2000, Cenozoic mammalian herbivores from the
 171 Americas: reconstructing ancient diets and terrestrial communities:
 172 *Annual Review Ecology and Systematic*, 31, 33-59.4
 173 MacFadden, B.J., Cerling, T.E., 1996, Mammalian herbivore communities,
 174 ancient feeding ecology, and carbon isotopes: a 10 million-year
 175 sequence from the Neogene of Florida: *Journal of Vertebrate*
 176 *Palaeontology*, 16, 103-115c.
 177 MacFadden, B.J., DeSantis, L.R., Hochstein J.L., Kamenov G.D., 2010. Physical
 178 properties, geochemistry, and diagenesis of xenarthran teeth: Prospects
 179 for interpreting the paleoecology of extinct species. *Palaeogeogr*
 180 *Palaeoclimatol Palaeoecol.* 291(3–4):180–189.
 181 Medina, E., Montes, G., Cuevas, E., Rokzandic, Z., 1986. Profiles of CO₂
 182 concentration and $\delta^{13}\text{C}$ values in tropical rain forests of the upper Rio
 183 Negro Basin, Venezuela. *J Trop Ecol.* 2(03):207–217.
 184 Morosi, E., Ubilla, M., 2014. Preliminary report on isotopic studies ($\delta^{13}\text{C}$) in living
 185 and Late Pleistocene ungulates of Uruguay: paleoecological inferences.
 186 Abstract Volume 4th International Paleontological Congress: 758.

187 Morosi, E., Ubilla, M., 2018. Stable Isotopes Studies in Late Pleistocene Horses from
 188 Uruguay. Abstract Volume 5th International Paleontological Congress: 1011
 189 Passey, B.H., 2002. Environmental change in the Great Plains; an isotopic record
 190 from fossil horses. *J Geol* 110:123–140.
 191 Passey, B.H., Robinson, T.F., Ayliffe, L.K., Cerling, T.E., Sponheimer, M., Dearing,
 192 M.D., Roeder, B.L., Ehleringer, J.R., 2005. Carbon isotope fractionation
 193 between diet, breath CO₂, and bioapatite in different mammals. *Journal of*
 194 *Archaeological Science* 32, 1459–1470.
 195 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2005.03.015>.
 196 Prado, J., Martinez-Maza, C., Alberdi, M.T., 2015. Megafauna extinction
 197 in South America: a new chronology from the Argentine pampas.
 198 *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 425:41–49.
 199 Sánchez-Chillón, B., Alberdi, M.T., Arroyo-Cabrales, J., 2005,
 200 Consideraciones ambientales del género *Equus* en el yacimiento
 201 del Pleistoceno superior de El Cedral (San Luis Potosí,
 202 México), (resumen), en XXI Jornadas de la Sociedad Española de
 203 Paleontología, Sevilla, Libro de resúmenes, 133-134.
 204 Suess, H.E., 1955. Radiocarbon concentration in modern wood. *Science* 122, 415-
 205 417.
 206 Thorp, J.L., Van Der Merwe, N.J., 1987. Carbon isotope analysis of fossil bone
 207 apatite. *S Afr J Sci.* 83(11):712–715.
 208 Ubilla, M., 2004. Mammalian biostratigraphy of Pleistocene fluvial deposits
 209 in northern Uruguay, South America. *Proc Geol Assoc.* 115:347–357.
 210 Ubilla, M., Perea, D., 1999. Quaternary vertebrates of Uruguay:

211 biostratigraphic, biogeographic and climatic overview. Quat South Am
212 and Antarct Pen. 12:75–90.

213 Weinstock, J., Willerslev, E., Sher, A., Tong, W., Ho, S.Y., Rubenstein, D., 2005.
214 Evolution, Systematics, and Phylogeography of Pleistocene. Horses in the
215 New World: A Molecular Perspective. PLoS Biol 3(8): e241.
216 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030241>

217 Woodburne, M., 2010. The Great American Biotic Interchange: Dispersals,
218 Tectonics, Climate, Sea Level and Holding Pens [J Mamm Evol](#). 2010 Dec;
219 17(4): 245–264 doi: [10.1007/s10914-010-9144-8](https://doi.org/10.1007/s10914-010-9144-8)

235

236 **CAPITULO 8**

237

238 **Carbon stable isotopes in fossil horses reflect climatic** 239 **and environmental changes during MIS-3 in northern** 240 **Uruguay.**

241

242

243 **1. Introduction**

244

245 The most prominent paleoclimatic events in the Quaternary, are related to
246 the alternation between glacial and interglacial periods, that in terrestrial
247 environments of South America caused geographic vegetation shifts with impacts
248 on the mammalian fauna (Prado et al., 2011; Domingo et al., 2012; Werneck, 2012;
249 Prado and Alberdi, 2017).

250 The modern South American mammalian communities, were determined by
251 the closure of the Panama isthmus (ca. 2.7 Ma) and later on, by the aforementioned
252 climatic and environmental fluctuations. Horses were conspicuous representatives
253 of the Neotropical Pleistocene mammalian assemblages, forming part of the Nearctic
254 arrival from Central and North American areas (Cione et al., 2015). They have been
255 described as mixed feeders (C₃-C₄), that lived in grasslands, prairies or savannas.

Although there were some populations, that exclusively fed on either C₃ or C₄ plants, interpreted like inhabiting forest or grassland zones respectively (MacFadden et al., 1996; Prado and Alberdi, 2017; Perez Crespo et al., 2018).

Equus neogeus was generalist in its diet and habitat, showing a large dietary plasticity, which is supported by several studies (MacFadden et al., 1996; Prado and Alberdi, 2017; Morosi and Ubilla, 2019 in chapter 7). These differences between food habits, were probably due to the presence of altitudinal and latitudinal gradients, that regulate the flora distribution (Prado and Alberdi, 2017).

The Argentinian population of *Equus neogeus*, found below parallel 35°S had a diet mostly of C₃ grass/plants, which indicated the presence of grassland near forested areas (Domingo et al., 2012). Whereas, *E. neogeus* located above parallel 32°S, were mostly specialized in feeding on C₄ plants (Prado et al., 2011; Panzani et al., 2019), indicating the presence of the gradient proposed by MacFadden et al. (1996, 1999), but see Morosi and Ubilla (2019), in chapter 7.

Hippidion principale was less flexible in its diet, and fed mostly on C₃ plants, interpreted as an inhabitant of forested zones, although some individuals were C₃-C₄ mixed feeders, but with important intake of C₃ (Prado et al., 2011). According to Domingo et al. (2012), this could be explained since C₃ grasslands, with nearby forests are abundant below parallel 35°S.

The plasticity in diet and habitat of *E. neogeus*, may explain their coexistence with other herbivorous and the presence of a resource partitioning, support the avoidance of competence for the same resources (Prado and Alberdi, 2017). Except in some cases of Argentine (Prado and Alberdi, 2017 and references therein), the mayor limitation of the previous works, is the lack of a more precise temporal

framework, with accurate absolute ages of the fossil sites, that help to elucidate short term Quaternary climatic variability.

The feeding adaptation trends abovementioned, are invoked to explain the presence of *E. neogeus* and *H. principale*, in the late Pleistocene Sopas Formation of northern Uruguay and other South American localities, where the first fed on more C₄ grass, while the latter fed on more C₃ plants (Prado and Alberdi, 2017; Morosi and Ubilla, 2019 in Chapter 7).

Isotopic studies in South American Pleistocene mammals, substantiate inferences not only on feeding behaviour but also about the dynamics of plant communities, at different latitudes represented by Quaternary fossiliferous sites (MacFadden et al., 1999; Sánchez et al., 2006; Lopes et al., 2013; Dantas et al., 2013, 2017; Prado and Alberdi, 2017; Perez-Crespo et al., 2018, among others).

Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$), have been proven to be an excellent tool, to understand the mammalian assemblage of the late Pleistocene Sopas Formation of northern Uruguay, since it was characterized as a mixed-fauna, with taxa belonging to different guilds and related to a wide range of habitats (Morosi and Ubilla, 2018, 2019).

Here, we use $\delta^{13}\text{C}$ data of *Hippidion principale* and *Equus neogeus* from Morosi and Ubilla (2019), organized in a time context given by ^{14}C and OSL dating, that span from 48.9 to 30.4 ka, corresponding to MIS-3 (Cabrera et al., 2019; Ubilla et al., 2016).

Considering the dietary preferences and associated environmental condition obtained through isotopic data, in Morosi and Ubilla (2019), it is here analysed the connection between the feeding strategies of both species of horses and the climate

changes of few millennia, developed during the late Pleistocene (between 50 and 30 ka) in northern Uruguay. We will also use palynologic studies, and Antarctic variation of temperatures as proxies (available in the literature) and in this way compare the results with climatic variations.

2. Geographic and Geological Setting

Nowadays, the Rio de la Plata grassland/steppe ecoregion, is located in the South eastern part of the South American, between 28°–38°S and 47°– 67°W (Morrone, 2004, see Figs. 11 and 12; de Melo Franca et al., 2015; Modernel et al., 2016; Mourelle et al., 2017). Its diversity, is reflected in the subregions defined by vegetation communities (Brazeiro et al., 2012; Modernel et al., 2016), where the majority of the species are endemic and the areas are mostly covered by native grasslands (Allen et al., 2011; Modernel et al., 2016). Climate conditions differ following southwest (dry- sub-humid) to northeast (humid) gradients, in annual precipitation and average temperature, which in turn determine two biomes: “pampas” and “campos” (Burkart, 1975). On the pampas of Argentina (mostly in the southwest of the Río de la Plata) the C₃ species dominate, while campos (sensu lato) in Uruguay and southern Brazil (northeast of the Río de Plata), are dominated by C₄ grass (Iriarte, 2006; Politis, 2008; Modernel et al., 2016; Mourelle et al., 2017) (Appendix-Fig. 1). The limits of these grasslands, in general are determined by contact with woodland vegetation, but forest can be found within the pampas and

campos, as gallery forest along the creeks, rivers, and around marshes (Brazeiro et al., 2012; Modernel et al., 2016).

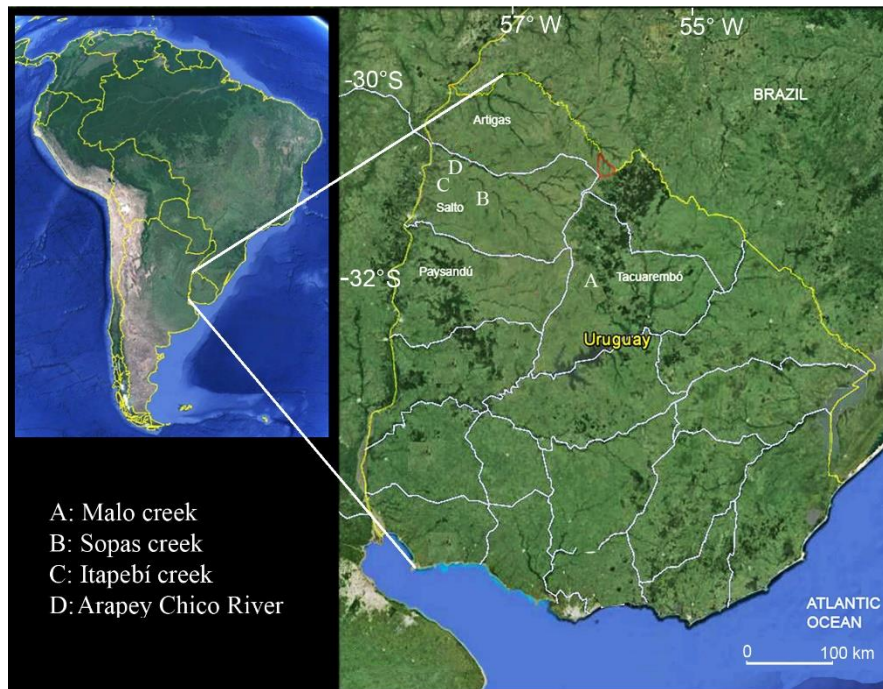


Figure 1. Location of the four selected fossil sites, from which *Equus neogeus* and *Hippidion principale* data were selected for this study. Data were taken from Morosi and Ubilla, 2019.

The Sopas Formation is a late Pleistocene continental unit, with outcrops located alongside creeks and rivers in northern Uruguay (Fig. 2), (Ubilla et al., 2004). Lithological features include: brownish mudstones and siltstones, medium to coarse sand and conglomerate basal beds (Fig. 2). It is a fossiliferous unit, including a diverse kind of body and fossil traces (Martínez and Rojas, 2004; Ubilla et al., 2016 and references therein).

342

343 The mammalian assemblage yields taxa belonging to different guilds of a
344 wide range of habitats, including tropical and temperate taxa associated to arid and
345 semiarid species and related to a mosaic of environments (Ubilla et al., 2016; Morosi
346 and Ubilla, 2018). This unit yields taxa that are not represented in the current
347 communities of Uruguay, but are extant in another areas of SA, showing local
348 extinction and shifting ranges probably linked to climatic changes (Ubilla et al., 2004,
349 2016; Gasparini et al., 2013).

350



43,400 - 30,400
(OSL range)



47,100 - 39,900
(OSL range)



36,624 - 30,860
(OSL range)

45,389 - 36,089
(cal C14 range)

351

352

353 **Figure 2.** Panoramic view of selected outcrops of the Sopas Formation and OSL and AMS age
354 ranges: A: Arapey Chico River (Salto Dept.); B: Sopas Creek (Salto Dept.); C: Malo creek
355 (Tacuarembó Dept.).
356

357

3 Materials and methods

3.1 Materials

Abbreviations– FC-DPV: Colección Paleontológica (Vertebrados Fósiles) de la Facultad de Ciencias (Montevideo); C: Colección Ghizzoni (Salto). IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry. SIL: Stable Isotope Laboratories (School of Environmental Sciences), UEA: University of East Anglia, England. OSL: Optically Stimulated Luminescence. ^{14}C : carbon dating. AMS: Accelerator Mass Spectrometry. The specimens, collection, ID and localities are included in Table 1.

3.2. Methods

Seven $\delta^{13}\text{C}$ results of *Equus neogeus* and five of *H. principale* from carbonate in enamel (Table 1), were taken from Morosi and Ubilla (2019), in chapter 7.

For the methodology used in: sampling, pre-treatment, isotopic techniques, Bayesian mixing models, photosynthetic pathways, isotopic enrichment, Suess Effect and Quantitative analyses, see Morosi and Ubilla (2018, 2019) in chapter 7 and 9 and supplementary of both chapters.

381

Localities	ID	Tooth	Taxon	$\delta^{13}\text{C}$ ‰	^{14}C age cal yr BP range	OSL age range
Itapebi Creek, Salto					48,944 - 43,067	
	FC-DPV 2935	Incisor	<i>Equus neogeus</i>	-6.6		
Sopas Creek, Salto						47,100 - 39,900
	C 24 – 10	M1-2	<i>Equus neogeus</i>	-4.5		
	FC-DPV 614	Molariform	<i>Equus neogeus</i> *	-7.7		
	FC-DPV 2720	m1	<i>Equus neogeus</i>	-9.4		
	C 35 - 5	P3	<i>Hippidion principale</i>	-9.2		
	C 22 – 3	M1-2	<i>Hippidion principale</i>	-10.7		
Arapey Ch. River, Salto						43,400 - 30,400
	C 52 – 1	M1-2	<i>Equus neogeus</i>	-8.3		
	FC-DPV 2409	M1-2	<i>Hippidion principale</i>	-12.2		
	FC-DPV 2450	M2	<i>Hippidion principale</i>	-10.8		
Malo Creek, Tacuarembó					45,389 – 36,089	36,624 – 30,860
	FC-DPV 468	Molariform	<i>Equus neogeus</i> *	-8.6		
	FC-DPV 1626	M1-2	<i>Equus neogeus</i>	-9.2		
	FC-DPV 2441	M2	<i>Hippidion principale</i> *	-11.8		

382

383 Table 1. Localities from where specimens of *E. neogeus* and *H. principale* were collected. Ages
384 were from Cabrera et al. (2019) and Ubilla et al. (2016). Isotopic values are from Morosi and Ubilla
385 (2019). * Samples belong to juvenile specimens.

386

387 AMS dating were from Cabrera et al. (2019) and Ubilla et al. (2016), and OSL
388 ages are from Ubilla et al. (2016). Ages were reorganised according to the studied
389 localities (Table 2).

390

391

392

393

394

ID lab.	Sample	Locality	¹⁴ C age B.P.	cal yr BP	OSL Age (year)	OSL range
AA108858	<i>Cyanocyclas. limosa</i>	Itapebi Creek	41,900 ± 1,500	48,944 - 43,067		
LVD-647	Sandy-silt	Sopas Creek			43,500 ± 3,600	47,100 - 39,900
LVD-2661	Medium sandy	Arapey Chico River			36,900 ± 6,500	43,400 - 30,400
AA104911	<i>Cyanocyclas</i> sp.	Malo Creek	39,900 ± 1,100	45,389 - 42,025		
AA104913	<i>Pomacea</i> sp.	Malo Creek	38,300 ± 940	43,932 - 40,865		
AA104914	<i>Pomacea</i> sp.	Malo Creek	37,070 ± 810	42,665 - 39,940		
AA101329	<i>Pomacea</i> sp.	Malo Creek	35,530 ± 680	41,421 - 38,659		
AA104915	<i>Pomacea</i> sp.	Malo Creek	33,560 ± 700	39,426 - 36,089		
UIC-3332	Medium sandy	Malo Creek			34,405 ± 2,240	36,624 - 32,165
UIC-3451	Medium to coarse sandy	Malo Creek			32,995 ± 1,930	34,925 - 31,065
UIC-3458	Medium sandy	Malo Creek			32,850 ± 1,990	34,840 - 30,860

Table 2. AMS ¹⁴C ages of Itapebi Creek, were obtained from Cabrera et al. (2019). AMS ¹⁴C of Sopas Creek and Arapey Chico River and AMS ¹⁴C and OSL ages of Malo Creek were get from Ubilla et al. (2016). Bold indicate maximum and minimum ages of each outcrop.

The ages of the studied outcrops by these two methods, reflect a congruent chronological framework related to MIS-3. We rather used the ranges obtained from both set of ages, that allow comparisons with patterns at millennial scale.

C₃ pathway (tropical grasses and sedge), has a $\delta^{13}\text{C}$ mean of -28,0 ‰ and C₄ pathways (trees, shrubs and temperate grasses) a mean of -14,0 ‰ (Cerling et al., 1997), which provide a natural marker for herbivore diets. Considering a 14,0 ‰ ± 0.5 ‰ of enrichment, between diet and enamel results (Cerling and Harris, 1999; Tejada-Lara et al., 2018), the $\delta^{13}\text{C}$ of C₃ feeder average is -14,0 ‰, and $\delta^{13}\text{C}$ of C₄ feeders is about 0,0 ‰.

To investigate if periods of millennial scale of climatic oscillation, during MIS-3 had effects in the diet of horses of Sopas Fm., $\delta^{13}\text{C}$ dataset were ordered in

the time context given by the ^{14}C and OSL available ages (Table 3), of the bearing outcrops of Itapebi Creek, Sopas Creek, Malo Creek and Arapey Chico River (Fig. 1).

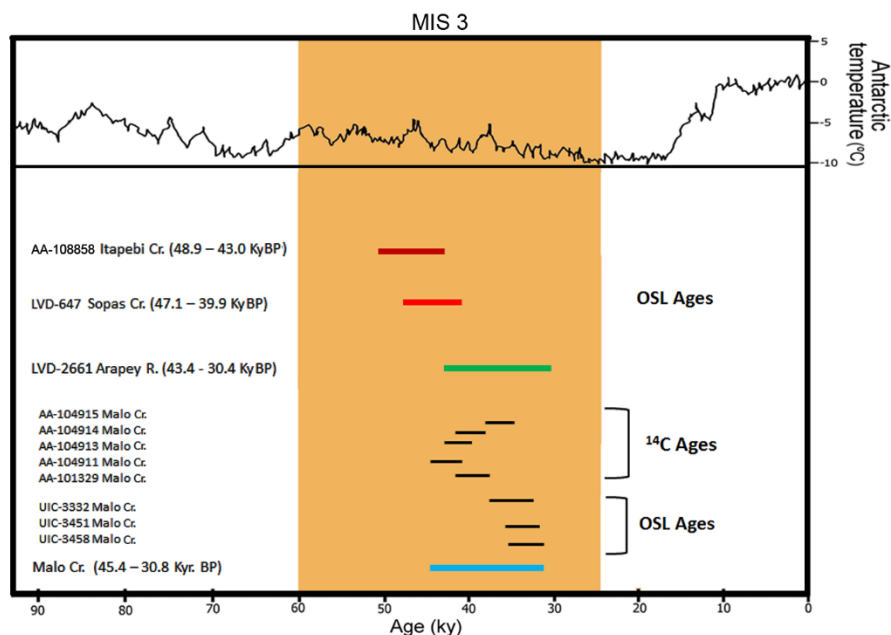


Figure 3. Above: Antarctic climatic oscillations in the last 90 ka, following Jouzel et al. (2007). Below: AMS ^{14}C and OSL age ranges from, Itapebi Creek, Sopas Creek, Arapey Chico River and Malo Creek. The Malo Creek outcrops have two complementary set of ages AMS ^{14}C and OSL stratigraphically ordered. The data are from Cabrera et al. (2019) and Ubilla et al. (2016).

The range ages of the localities, were chronologically organized from older to younger and $\delta^{13}\text{C}$ data grouped by locality, taking into consideration that ages belong to the same stratigraphic level, in which fossils used for isotopic studies were excavated (Table 3; Fig. 3).

4. Results

E. neogeus collected in the Itapebi Creek outcrops (AMS ^{14}C are between 48.9 and 43.1 cal ka BP, (Ubilla, 2016)), has a $\delta^{13}\text{C}$ mean of - 6.6‰, corresponding to 55 % of C_3 foodstuff assimilated.

A - Ages			B - Isotopes				C - Mixing model		
			$\delta^{13}\text{C}$ ‰				C_3 %		
	14C cal yr BP	OSL	min	Max	Mean	SD	min	Max	Mean
Itapebi Creek	48,944 - 43,067								
<i>E. neogeus</i>					-6.6				55
Sopas Creek		47,100 - 39,900							
<i>E. neogeus</i>			-9.4	-4.6	-7.2	2.47	40	74	59
<i>H. principale</i>			-10.7	-9.2	-9.9	1.04	73	84	78
Malo Creek	45,389 - 36,089	36,624 – 30,860							
<i>E. neogeus</i>			-9.2	-8.6	-8.9	0.36	69	72	71
<i>H. principale</i>					-11.8*				92
Arapey Chico River		43,400 - 30,400							
<i>E. neogeus</i>					-8.3*				67
<i>H. principale</i>			-12.2	-10.8	-11.4	0.98	84	94	89

Table 3 Localities, A: ^{14}C and OSL range ages, B: minimum, maximum, mean and univariate statistics of carbon isotopes ($\delta^{13}\text{C}$) in ‰, SD: standard deviation = 1σ . C: minimum, maximum and mean of C_3 percentage assimilated. Ages taken from Cabrera et al. (2019) and Ubilla et al. (2016). Isotopic values are from Morosi and Ubilla (2019).

E. neogeus from the Sopas Creek (OSL 47.1 to 39.9 ka), have a $\delta^{13}\text{C}$ range from - 9.4 to -4.6‰, with a mean value of -7.2 ‰, SD (1σ) = 2.47, and the percentage of the C_3 , range from 40 to 74 % (mean 59 %). The $\delta^{13}\text{C}$ of *H. principale* range from - 10.7 to -9.2 ‰, mean -9.9 ‰, SD = 1.04, and the C_3 in the diet are between 73 and 84 % (mean 78 %). In both localities, $\delta^{13}\text{C}$ of *E. neogeus* correspond with a prairie

of approximately 50 % pampa (C₃ grassland) and 50 % campo (C₄ grassland).

In the Arapey Chico River locality (age OSL 43.4 – 30.4 ka), the diet of *E. neogeus* presents a $\delta^{13}\text{C} = -8.3\text{‰}$, while a 67 % of C₃. *H. principale* has a $\delta^{13}\text{C}$ between -12.2 and -10.8 ‰ with a mean of -11.4‰, SD = 0.98, and a C₃ between 84 to 94 % (mean 89 %).

The Malo Creek outcrops, have two complementary sets of ages, an AMS ¹⁴C set ranging from 45.4 – 36.1 cal ka BP and an OSL set that range 36.6 – 30.9 ka. The compilation of both sets, yields a composite age between 45.4 and 30.9 ka (Table 2, Fig. 3). In this site *E. neogeus* has a $\delta^{13}\text{C}$ ranging from -9.2 to -8.6 ‰ with a mean of -8.9 ‰, SD = 0.36, and the C₃ assimilated is between 69 and 72 % (mean 71 %). *H. principale* $\delta^{13}\text{C}$ is -11.8 ‰, corresponding to 92 % of C₃ in the diet. The average data are in Table 3 and Fig. 4.

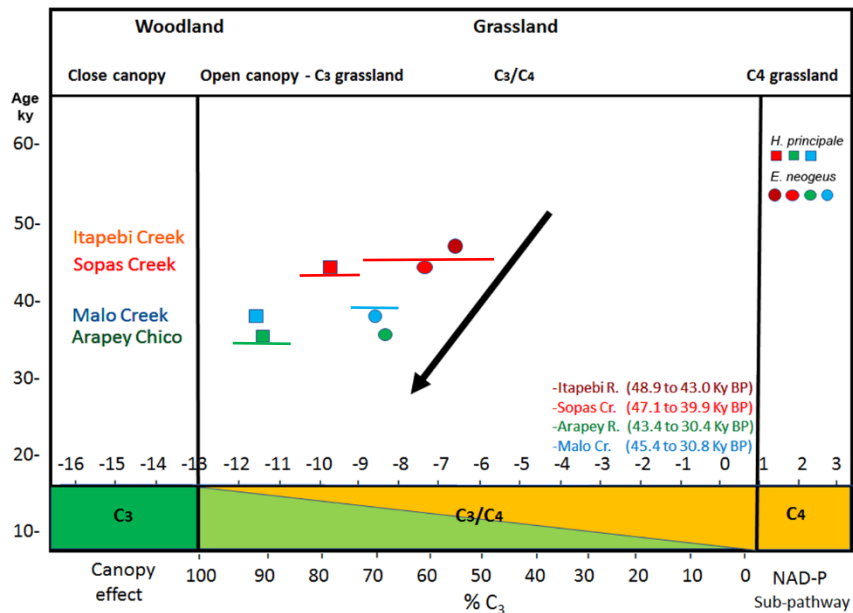


Figure 4. Bivariate plot of X: average $\delta^{13}\text{C}$ (percentage of C₃ in the diet with SD) versus Y: age in Ka. The $\delta^{13}\text{C}$ of *E. neogeus* and *H. principale* are grouped and roughly aligned by the mean age of the sites. The black arrow shows a shift toward more depleted values of $\delta^{13}\text{C}$, which mean a bigger percentage of C₃ in the diet. SD is up in *E. neogeus* and down in *H. principale*. Isotopic values are from Morosi and Ubilla (2019).

In the Arapey Chico River and Malo Creek localities, $\delta^{13}\text{C}$ data indicate that *E. neogeus* and *H. principale* assimilated a 12 to 13 % more C_3 plants, than in the Itapebi Creek and Sopas Creek.

5. Discussion

In order to analyse the isotopic result and the paleoenvironmental features in late Pleistocene of northern Uruguay, we take into account the Antarctic records of temperature corresponding to MIS-3 (Jouzel et al., 2007; Pedro et al., 2013) (Fig 4; Appendix-Fig. 2) and the palynologic records from southern Brazil, Uruguay and Argentine (Behling and Lichte, 1997; Ledru et al., 1996, 2001; Behling and Negrelle, 2001; Behling, 2002; Behling et al., 2002; Behling et al., 2004; 2005; Politis, 2008; Mourelle and Prieto, 2012; Modernel et al., 2016) (Appendix-Fig. 1). These proxies help to interpret and infer, the linkage between the isotopic results related to the feeding behaviour of horses, with climate changes and vegetation patterns.

To understand climate shift in the Southern hemisphere, it is important to know how global climate work and how northern and southern climate are coupled. The thermal bipolar ocean seesaw hypothesis, explains the time relationship between Dansgaard-Oeschger (DO) events and Antarctic Isotope Maxima (AIM) events (Stocker and Johnsen, 2003). Greenland ice-core records, spanning the last glacial and deglaciation period, includes sudden DO warming phases of 10-16° C, between cold (stadial) and warmer (interstadial) climate states (Kindler et al., 2014).

The AIM events, do not display the rapid and large climate variability observed in Greenland records, and the temperature variation is between 1-3°C (Jouzel et al., 2007; Parrenin et al., 2013; Pedro et al., 2018 and Appendix-Fig. 2). The ice-core data also suggest a systematic relationship, in which Antarctica gradually warms during Greenland stadials, and gradually cools during Greenland interstadials, with approx. 200 years of difference (Pedro et al., 2018).

The MIS-3 in Antarctic cores, was characterized by several millennial-scale oscillations of temperature but also, two larger intervals of time can be differentiated (Fig. 5 A).

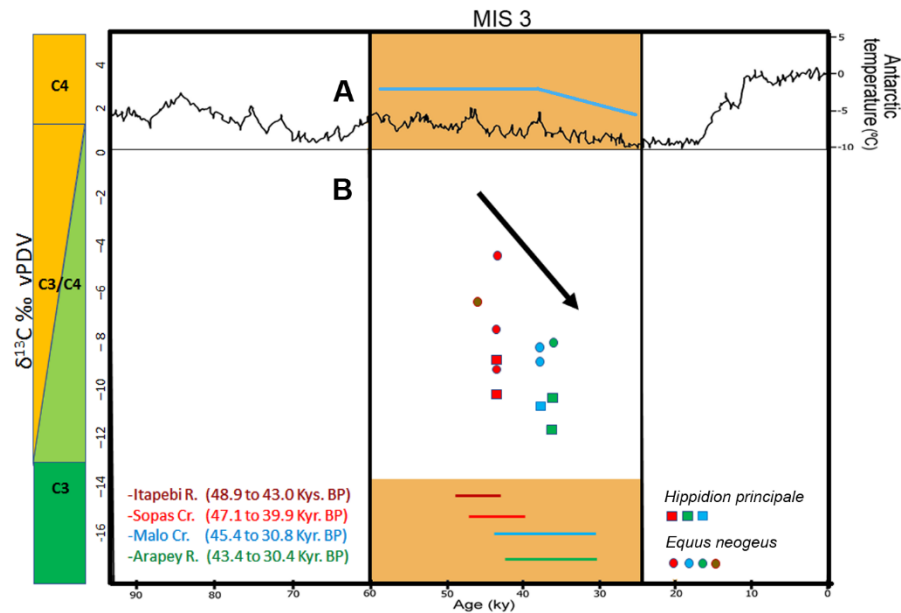


Figure 5. X: age in Ka, Y: $\delta^{13}\text{C}$ in ‰. A: Antarctic climatic oscillations in the last 90 ka following Jouzel et al. (2007); the blue line in A, illustrates a relatively stable warm climate from the beginning of MIS-3 to ca. 40 ka, and from that point, temperature started to decline and lead to LMG. B: bivariate plot of $\delta^{13}\text{C}$ versus ages of *Equus neogeus* and *Hippidion principale* grouped by sites, indicating more negative $\delta^{13}\text{C}$ values (a bigger percentage of C₃ foodstuff in the diet) when temperatures started to drop (black arrow). Colour horizontal bars are range of ages. Modified from Jouzel et al. (2007) and isotopic values are from Morosi and Ubilla (2019).

The first large interval, happened from ca. 60 to 40 ka, with a temperature around -5 °C than nowadays, characterized by random changes in a short time scale and a moderately stable climate (Jouzel et al., 2007; Pedro et al., 2013). In the second interval, from ca. 40 to 25 ka, the climate also has random changes in short time scales, but with a cooling trend in the long-term and temperature dropping to -7.5° C, leading to the LMG or MIS-2 (Jouzel et al., 2007; Pedro et al., 2013). This descent in Antarctic temperatures, with the fall of sea level and northward displacements of the polar front was yet postulated, being reflected in the climate of SA (Ledru et al., 1996, 2001) (Appendix-Fig. 3).

According to this author, based on pollinic evidences, between ca. 60 – 40 ka, the transport of atmospheric properties, as a result of horizontal heterogeneity (polar advections sensu Hunt et al., 2016), decreased in intensity and frequency. As a consequence, climate was relatively warm and wet, capable of maintaining the forests of the southern portion of the Amazon basin. Between 40-27 ka, the temperature should have had a gradual decline, mostly because the Antarctic cold and humid fronts started to migrate northward, together with the drop in the sea level ca. 80 mbpsl, which lead to changes towards a more open vegetation (Ledru, 1996; Behling, 2002; Ponce and Rabassa, 2016). In this period, was proposed that the Southern highland in Brazil was treeless, the coastal lowland rainforest (Behling and Negrelle, 2001) and the cerrado sensu lato (savanna to dry forest), was mostly replaced and dominated by subtropical grassland vegetation (campos) and subtropical gallery forest (Behling and Lichte, 1997; Behling, 2002; Behling and DaPatta, 2007) (Fig. 6 B). According to Ledru et al. (1996, 2001), in the southern part of Brazil, polar front incursions were frequent and result in heavy precipitation

(Appendix-Fig. 3). Consequently, the campos expanded from the South to Southeast, from latitudes of about 30° S to 20° S (Behling and Lichte, 1997; Behling and Negrelle, 2001). Pollen composition is indicative of random changes in short time-scales, but cooling in the long-term, followed by a final drop (27–11.5 ka), that lead to LMG (Last Maximum Glacial), which was much drier and colder than the previous ones (Behling and DaPatta, 2007).

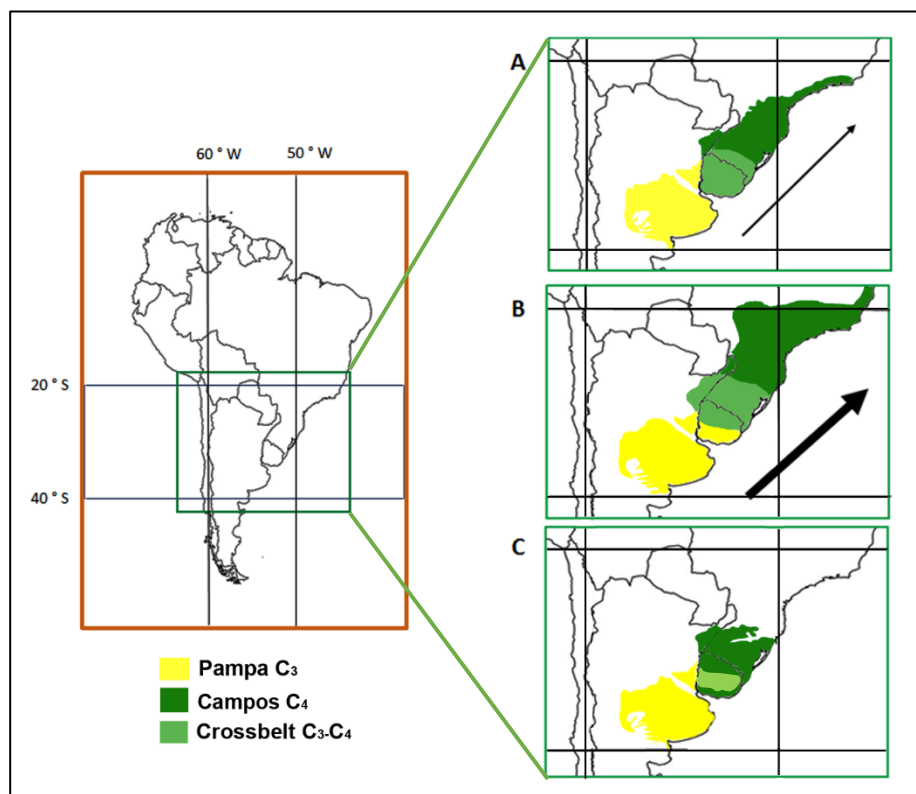


Figure 6. Left: square showing the geographic area of interest to this study; Right: pampas and campos shifting, influenced by climatic oscillations hypothesized. A: pampas and campos at the end of the relatively warm phase of MIS-3 (between ca. 50 and 40 ka) with the ecotone C₃-C₄ moving toward north of the nowadays position. Black arrow shows relatively weak polar front incursions. B: between 40 and 30 ka, in the beginning of the cold phase of MIS-3, the ecotone C₃-C₄ migrated further northward, mostly due to strong polar front incursions resulting in heavy precipitations (illustrated by a wider black arrow). C: pampas and campos at the present time. Figure based on data taken from Behling (2002); Behling and Lichte (1997), Behling and Negrelle (2001); Behling et al. (2002); Behling et al. (2004); Iriarte (2006); Ledru et al. (1996, 2001, 2005), Modernel et al. (2016); Morrone (2004); Mourelle and Prieto (2012) and Politis (2008).

554

555 The $\delta^{13}\text{C}$ results on fossil horses of the Sopas Formation, seems to reflect the
556 influence of the two different climatic periods abovementioned, of about 10 ka each
557 inside MIS-3, giving additional evidence to reconstruct palaeovegetation and
558 dynamic changes.

559 The *E. neogeus* $\delta^{13}\text{C}$ values, from Itapebi Creek (48.9 – 43.0 ka) and Sopas
560 Creek outcrops (47.1 – 39.9 ka) are relatively high, compare with the other two
561 studied localities. The former has 55 % of C_3 and the latter a mean of 59 % of C_3 in
562 the diet (Table 3). These percentages indicate a mixed diet of C_4 grass (campos)
563 and C_3 grass/plants (pampas) with a slight predominance of the latter. Based on
564 $\delta^{13}\text{C}$ data, climatic condition to allow the growth of both C_4 grass and C_3 grass/plants
565 in similar proportion, should have been relatively cold and wet. The main driver of
566 changes in the composition of C_3 - C_4 plant assemblages, seems to have been cold
567 and moisture. Between 48.9 and 39.9 ka, pampas were in northern position than
568 nowadays. Regarding $\delta^{13}\text{C}$, grassland in northern Uruguay was a mix of C_3 - C_4
569 (pampas-campos) and it remains relatively stable until about 40 ka (Fig. 6 A).*E.*
570 *neogeus* from Arapey Chico River (43.4- 30.4 ka) and Malo Creek (45.4 – 30.8 ka)
571 outcrops, shows a more depleted $\delta^{13}\text{C}$ than in Itapebi Creek and Sopas Creek sites
572 and the C_3 assimilation values have a mean of 67 and 71% respectively, indicating
573 a higher percentage of C_3 foodstuff (Table 3, Fig. 4). This trend toward a higher
574 consumption of C_3 , is also observed when the $\delta^{13}\text{C}$ of *H. principale* is analysed,
575 according to Morosi & Ubilla (2019), it was living in sympatry with *E. neogeus*. As
576 the ages of the localities decrease, $\delta^{13}\text{C}$ is more depleted and the percentage of C_3

577

|

578

579 in the diet increases (Table 3, Fig. 4). *H. principale* in Sopas Creek has an average
580 of 78 % of assimilated C₃, while in Malo Creek and Arapey Chico River, this
581 percentage increases to 89 and 92 % respectively. In the two latter localities the
582 more negative $\delta^{13}\text{C}$, correspond well with a colder climate .

583 Around 40 Ka, climate began to be colder and more humid and pampas
584 started to migrate further North, moving the C₃-C₄ crossover belt even more than in
585 the previous 10 ka, and the proportion of C₃ in the campos of Sopas Formation
586 increased, but it did not completely replace C₄ (Fig. 6 B). Several studies have shown
587 a northward shift of the campo-pampa vegetation, reaching as far as 750 km from
588 their present distribution, replacing forests with grassland (Ledru et al.,1996; Behling
589 and Lichte, 1997; Salgado-Laboriau, 1997; Behling, 2002), due to cool, moist
590 episodes and the fall in the temperature, attributed to a northern displacement of the
591 polar front (Ledru, 1996; Behling, 2002, 2004; Jozuel et al., 2007; Lopez 2013).
592 These changes of climatic conditions, probably had a relatively low-impact on the
593 vegetation of northern Uruguay, since in fact it remained as an C₃-C₄ ecotone (with
594 a higher percentage of C₃ grassland), unlike what happened in other places of SA
595 (Fig. 6 B)

596 $\delta^{13}\text{C}$ data of enamel has proven to be very robust, given that our results show
597 small changes in the pampa-campo (C₃-C₄) composition, which are supported by
598 independent palynologic and climatic studies in campos and pampas (vide supra).

599 The cause of the low impact would be, that the Parana Basin produced a
600 particularly humid and local environment that could favour the penetration of the
601 subtropical forest as far as 35°S like nowadays (Fig. 6 C) (Politis, 2008).

602

603 Millennial climatic changes, would have generated vegetation shifts by the
604 successive small expansion and retraction cycles on campos and pampas. These
605 movements, as an outcome, could generate a mosaic of environment, that would
606 allow to maintain a mixed fauna previously proposed for Sopas Formation (Ubilla,
607 2004; Ubilla et al., 2016, among others).

608 As a comparison, amid the isotopic works carried out on horses in SA,
609 especially those located in southern Brazil, Uruguay and the north-centre of
610 Argentina, call our attention that some of them do not have any dating or include
611 long time intervals. In some cases, hundreds of thousands of years (MacFadden
612 Shockley, 1997), or millions of years in others (MacFadden et al., 1996; Prado et al.,
613 2011), while in this research we are using a scale of few millennia.

614

615

616 **Conclusions**

617

- 618 • Vegetation and latitudinal gradients are not static, in SA they can migrate
619 hundreds of Km in a few thousand years, from north to south and vice
620 versa depending on weather conditions. Reason why, it is essential to
621 have absolute dating and use other proxies, such as the Antarctic records
622 of temperature, palynologic records, etc. It is important to know the range
623 of time studied, since isotopic data could be different on the same site, if
624 the climate correspond to a glacial or interglacial period.
- 625 • The $\delta^{13}\text{C}$ data suggest, that there was a response and adaptation of the
626 equids of northern Uruguay (Sopas Formation), according to the variation in
627 the percentage in the $\text{C}_3\text{-C}_4$ composition of the grassland, which in turn would
628 have been influenced by a climatic variation at millennial scale.
- 629 • Ca. 50 to 40 ka, $\delta^{13}\text{C}$ values of *E. neogeus*, from Itapebi Creek and Sopas
630 Creek, indicate a mixed $\text{C}_3\text{-C}_4$ diet, with slight predominance of the former (55
631 to 59 %). Ca. 40 to 30 ka, *E. neogeus* from Arapey Chico River and Malo
632 Creek shows a more depleted $\delta^{13}\text{C}$ than in the previous 10 ka, indicating a
633 higher percentage of C_3 foodstuff in the diet (12 % more). This trend toward
634 a higher consumption of C_3 , is also observed when carbon isotope data of *H.*
635 *principale* are analysed (13 % more). As the localities ages decrease, $\delta^{13}\text{C}$
636 become more depleted and the percentage of C_3 in the diet increases.

- Considering the currently position of the pampas-campos, ca. 50-40 ka, the pampas were in a northern position than in its present location, generating an environment suitable for C₃-C₄ grass growing in a similar proportion.
- Ca. 40-30 ka, the C₃-C₄ crossover belt started to migrate further North, the main driver of changes in the composition of plant assemblages, seems to have been cool, moist episodes and the fall in the temperature, generating a conducive environment for the growth of C₃ grass, without a complete replacement of C₄ grass.
- Millennial climatic changes could have generated vegetation shifts, by the successive expansion and retraction of C₄-C₃ belt. These shifts as an outcome, would have produce a mosaic of environment that could allow to maintain the mixed fauna previously proposed for Sopas Formation, by other authors.

653

654 **References**

655

656 Allen, V.G., Batello, C., Berretta, E.J., Hodgson, J., Kothmann, M., Li, X., McIvor, J.,
657 Milne, J., Morris, C., Peeters, A., Sanderson, M., 2011. An international
658 terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass Forage Sci.* 66 2–
659 28

660 Ambrose, S. and Katzanberg, M., 2001. *Biogeochemical Approaches to*
661 *Paleodietary Analysis*. Vol 5. Springer 2001, Kluwer Academic Publishers
662 New York.

663 Behling, H., 2002. South and southeast Brazilian grasslands during
664 Late Quaternary times: a synthesis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology,*
665 *Palaeoecology* 177 (2002) 19 – 27.

666 Behling, H., DePatta Pillar, V., Orloci, L., Girardi Bauermann, S., 2004. Late
667 Quaternary Araucaria Forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics,
668 studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the
669 Cambara do Sul core in southern Brazil. *Palaeogeography,*
670 *Palaeoclimatology, Palaeoecology* 203, 277-297.

671 Behling, H. and DaPatta, V., 2007. Late Quaternary vegetation, biodiversity and fire
672 dynamics on the southern Brazilian highland and their implication for
673 conservation and management of modern Araucaria Forest and grassland
674 ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2007) 362, 243–251
675 doi:10.1098/rstb.2006.1984

676

677 Behling, H and Lichte, M., 1997. Evidence of Dry and Cold Climatic Conditions
 678 at Glacial Times in Tropical South-eastern Brazil QUATERNARY
 679 RESEARCH **48**, 348–358 (1997) ARTICLE NO. QR971932

680 Behling, N. and Negrelle, R., 2001. Tropical Rain Forest and Climate Dynamics
 681 of the Atlantic Lowland, Southern Brazil, during the Late Quaternary.
 682 Quaternary Research **56**, 383–389 (2001) doi:10.1006/qres.2001.2264

683 Behling, H., Arz, H., Parzold, G., Wefer, G., 2002. Late Quaternary vegetational and
 684 climate dynamics in south-eastern Brazil, inferences from marine cores Geo
 685 B 3229-2 and GeoB 3202-1. Palaeogeography, Palaeoclimatology,
 686 Palaeoecology 179 (2002) 227-243.

687 Bender, M.M., 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the
 688 pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. Phytochemistry 10(6),
 689 1239–1244.

690 Bocherens, H., Drucker, D.G., 2013. Terrestrial Teeth and Bones. In: Elias S.A.
 691 (Ed.), The Encyclopedia of Quaternary Science. Elsevier, Amsterdam 1, pp.
 692 304-314.

693 Brazeiro, A., Panario, D., Soutullo, A., Gutierrez, O., Segura, A., Mai, P., 2012.
 694 Clasificación y delimitación de las eco-regiones del Uruguay. Informe
 695 Técnico. Convenio MGAP/PPR – Facultad de Ciencias/Vida Silvestre/
 696 Sociedad Zoológica del Uruguay/CIEDUR. 40p. (Montevideo, Uruguay).

697 Burkart, A., 1975. Evolution of grasses and grasslands in South America. Taxon
 698 24:53-66.

699 Cabrera, F., Martínez, S., Ubilla, M., 2019. New radiocarbon AMS ages on mollusks
700 from the Sopas Formation (Pleistocene, Uruguay) and a new continental
701 Holocene record for Uruguay. V International Paleontological Congress 1032.
702 Paris.

703 Cerling, T.E., Harris, J.M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and
704 bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and
705 paleoecological studies. *Oecologia* 120(3), 347–363.

706 Cione, A., Gasparini, G., Soibelzon, E., Soibelzon, L., Tonni, E.P., 2015. The Great
707 American Biotic Interchange. A South American Perspective. Springer Briefs
708 in Earth System Sciences, London.

709 Dantas, M., Dutra, R., Cherkinsky, A., Fortier, D., Kamino, L., Cozzuol, M., Riveiro,
710 A., Vieira, F., 2013.. Paleoecology and radiocarbon dating of the Pleistocene
711 megafauna of the Brazilian Intertropical Region. *Quaternary Research*, 79(1),
712 61-65. Doi:10.1016/j.yqres.2012.09.006

713 Dantas, M.A.T., Cherkinsky, A., Bocherens, H., Drefahl, M., Bernardes, C., de Melo
714 Franca, L., 2017. Isotopic paleoecology of the Pleistocene megamammals
715 from the Brazilian Intertropical Region: Feeding ecology ($\delta^{13}\text{C}$), niche breadth
716 and overlap. *Quaternary Science Review* 170, 152-163.

717 de Melo Franca, L., de Acevedo, L., Dantas M.A.T., Bocchiglieri, A., Dos Santos
718 Avilla, L., Pereira Lopez, R., Lopez da Silva, J.L. 2015. Review of feeding
719 ecology data of Late Pleistocene mammalian herbivores from South America
720 and discussions on niche differentiation. *Earth-Science Reviews* 140, 158-
721 165. DOI: [10.1016/j.earscirev.2014.10.006](https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2014.10.006)

722 Domingo L, Prado JL, Alberdi MT. 2012. The effect of paleoecology and
 723 paleobiogeography on stable isotopes of Quaternary mammals from South
 724 America. *Quat Sci Rev.* 55:103-113.

725 Ehleringer, J.R., Field, C.B., Lin, Z.F., Kuo, C.Y., 1986. Leaf carbon isotope and
 726 mineral composition in subtropical plants along an irradiance cline. *Oecologia*
 727 70(4), 520–526.

728 Ehleringer, J.R., Sage, R.F., Flanagan, L.B., Pearcy, R.W., 1991. Climate change
 729 and the evolution of C₄ photosynthesis. *Trends in Ecology and Evolution* 6(3),
 730 95–99.

731 Ehleringer, J.R., Cerling, T.E., Helliker, B.R., 1997 C-4 photosynthesis, atmospheric
 732 CO₂ and climate. *Oecologia* (1997) 112:285-299.

733 Gasparini, G, M. Ubilla & E. P. Tonni. 2013. The Chacoan peccary, *Catagonus*
 734 *wagneri* (Mammalia, Tayassuidae) in the late Pleistocene (northern Uruguay,
 735 South America): Palaeoecological and palaeobiogeographic considerations.
 736 *Historical Biology* 25: 679-690.

737 Hopkins, J.B.III., Ferguson, J.M., 2012. Estimating the Diets of Animals Using Stable
 738 Isotopes and a Comprehensive Bayesian Mixing Model. *Plos one*
 739 7(1),e28478. doi:10.1371/journal.pone.0028478.

740 Hunt, G.L. Jr., Drinkwater, K.F., Arrigo, K., Berge, J., Daly, K.L., Danielson, S.,
 741 Daase, M., Hop, H., Isla, E., Karnovsky, N., Laidre, K., Mueter, F.J., Murphy,
 742 E.J., Renaud, P.E., Smith, W.O. Jr., Trathan, P., Turner, J., Wolf-Gladrow, D.,
 743 Advection in polar and sub-polar environments: Impacts on high latitude
 744 marine ecosystems, *Progress in Oceanography* (2016),
 745 doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pocean.2016.10.004>

746 Iriarte, J., 2006. Vegetation and climate change since 14.810 ¹⁴C yr. B.P. in south-
 747 eastern Uruguay and implications for the rise of early Formative societies.
 748 Quatern. Res. 65, 20e32.

749 Jouzel J., Masson-Delmotte V., Cattani O., Dreyfus G., Falourd S., Hoffmann G.,
 750 Minster B., Nouet J., Barnola J.M., Chappellaz J., Fischer H., Gallet J.C.,
 751 Johnsen S., Leuenberger M., Loulergue L., Luethi D., Oerter H., Parrenin F.,
 752 Raisbeck G., Raynaud D., Schilt A., Schwander J., Selmo E., Souchez R.,
 753 Spahni R., Stauffer B., Steffensen J.P., Stenni B., Stocker T.F., Tison J.L.,
 754 Werner M. & Wolff E.W. 2007 – Orbital and millennial Antarctic climate
 755 variability over the past 800,000 years. Science, 317: 93–797

756 Keeling, C., Piper, S., Whorf, T., Keeling, R., 2011. Evolution of natural and
 757 anthropogenic fluxes of atmospheric CO₂ from 1957 to 2003. Tellus 63B, 1-
 758 22.

759 Kindler, P., Guillevic, M., Baumgartner, M., Schwander, J., Landais, A.,
 760 Leuenberger, M.: Temperature reconstruction from 10 to 120 kyr from the
 761 NGRIP ice core, Clim. Past, 10, 887–902, [https://doi.org/10.5194/cp-10-887-](https://doi.org/10.5194/cp-10-887-2014)
 762 2014, 2014.

763 Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The effects of sample treatment and
 764 diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite.
 765 Journal of Archaeological Sciences 24(5), 417–429.

766 Ledru, M., 1993. Late Quaternary Environmental and Climatic Changes in Central
 767 Brazil. Quaternary Research 39, 90-98 (1993)

768 Ledru, M.P., Soares Braga, P.I., Soubies, F., Fournier, M., Martin, L., Suguio, K.,
 769 Turcq, B. 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil):

evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 123, 239-257.

Ledru, M., 2002. Late Quaternary history and evolution of the cerrados as revealed by palynological records. In book: *The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna*, Publisher: Columbia University Press, Editors: P.S. Oliveira, R.J. Marquis, pp.33-5. <https://www.researchgate.net/publication/258833528>

Ledru, M., Rousseau, D., Cruz, F., Riccomini, C. Karmann, I., Martin, L., 2005. Paleoclimate changes during the last 100,000 yr. from a record in the Brazilian Atlantic rainforest region and interhemispheric comparison. *Quaternary Research* 64 (2005) 444 – 450.

Lopez, R., Ribeiro, A., Rebello, S., Schultz, C., 2013. Late middle to late Pleistocene paleoecology and paleoenvironments in the coastal plain of Rio Grande do Sul State, Southern Brazil, from stable isotopes in fossils of *Toxodon* and *Stegomastodon*. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 369, 385-394.

MacFadden, B.J., 2013. Dispersal of Pleistocene *Equus* (Family Equidae) into South America and Calibration of GABI 3 Based on Evidence from Tarija, Bolivia. *Plos One* 8(3), e59277. doi: 10.1371/journal.pone.0059277

MacFadden, B., Cerling, T. and Prado J., 1996. Cenozoic Terrestrial Ecosystem Evolution in Argentina: Evidence from Carbon Isotopes of Fossil Mammal Teeth <https://www.researchgate.net/publication/271205620>

MacFadden, B.J., Cerling, T.E., Harris, J.M., Prado, J., 1999. Ancient latitudinal gradients of C₃/C₄ grasses interpreted from stable isotopes of New World

794 Pleistocene horse (*Equus*) teeth. *Global Ecology and Biogeography* 8(2),
795 137-149.

796 Martínez, S., Rojas, A., 2004. Quaternary continental mollusks from northern
797 Uruguay: distribution and paleoecology. *Quaternary International* 114:123–
798 128.

799 Modernel, P., Rossing, W.A.H., Coorbels, M., Dogliotti, S., Picasso, V. y Ttittonell, P.,
800 2016. Land use change and ecosystem service provision in Pampas and
801 Campos grasslands of southern South America. *Environmental Research*
802 *Lettters*11: 1–21

803 Morosi, E., Ubilla, M., 2018. Dietary and palaeoenvironmental inferences in
804 *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using
805 carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). *Historical*
806 *Biology* 31, 196-202.

807 Morosi E., Ubilla M., 2019. Feeding and environmental studies on Late Pleistocene
808 horses in mid-latitudes of South America (northern Uruguay). *Quaternary*
809 *Science Review*. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.106025>

810 Mourelle, D., Macedo, R., Prieto, A., 2018. Análisis palinológico actual y
811 Del cuaternario tardío en la Región de los *campos* (Uruguay y Sur de Brasil): estado
812 de las investigaciones, dificultades y potencialidades. En: A.R. Prieto (Ed.),
813 *Metodologías y estrategias del análisis palinológico del Cuaternario tardío*.
814 *Publicación Electrónica de la Asociación Paleontológica Argentina* 18 (2):
815 156–170. <http://dx.doi.org/10.5710/PEAPA.28.05.2018.258>

816 Mourelle, D., Prieto, A.R., 2012. Modern pollen assemblages of surface

817 samples and their relationships to vegetation in the *campos* region of
818 Uruguay. *Review of Palaeobotany and Palynology* 181:22–33.

819 Mourelle, D., Prieto, A., García-Rodríguez, F., 2017. Riparian woody vegetation
820 history in the campos region, south-eastern South America, during two-time
821 windows: late Pleistocene and late Holocene. *Quaternary Science Reviews*
822 167 (2017) 14-29

823 Panario, D., Gutiérrez, O., Sánchez, L., Peel, E., Oyantcabal, P., Rabassa, J., 2014
824 Ancient landscapes of Uruguay. In: Rabassa J, Olliers C (eds) Gondwana
825 landscapes in Southern South America. Springer Earth System Science,
826 Springer, Berlin.

827 Pansani, T.R., Muniz, F.P., Cherkinsky, A., Pacheco, M.L., Dantas, M.A.T., 2019.
828 Isotopic paleoecology ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}$) of Late Quaternary megafauna from Mato
829 Grosso do Sul and Bahia States, Brazil. *Quaternary Science Reviews* 221,
830 e105864 doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.105864

831 Parrenin, F., Masson-Delmotte, V., Keohler, P., Raynaud, D., Paillard, D.,
832 Schwander, J., Barbante, C., Landais, A., Wegner, A., Jouzel, J., 2013.
833 Synchronous change of atmospheric CO₂ and Antarctic temperature during
834 the last deglacial warming. *Science* 339 (6123), 1060e1063.

835 Pedro, J., Jochum, M., Buizert, C., Feng, H., Barker, S., Rasmussen, S., 2018.
836 Beyond the bipolar seesaw: Toward a process understanding of
837 interhemispheric coupling. *Quaternary Science Reviews* 192:27-46 DOI:

838 Pérez-Crespo, V., Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2018. Stable isotopes and diets of
839 Pleistocene horses from southern North America and South America:

840 similarities and differences. *Palaeobiodiversity and Palaeoenvironments*
841 98(4), 663-674.

842 Peterson, B., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of*
843 *Ecology and Systematic* 18(1), 293–320.

844 Phillips, D., 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing
845 models. *Journal of Mammalogy* 93(2), 342–352.

846 Ponce, J., Rabassa, J., 2016. Paleogeographic evolution of the Atlantic coast of
847 South America during Marine Isotope Stage 3 (MIS 3). In Gasparini G.,
848 Rabassa J., Deschamps, M., Tonni, E. (Eds), *Marine Isotope Stage 3 in*
849 *Southern South America, 60 ka BP-30 ka BP. Serie Springer Earth System*
850 *Sciences*, pp. 155–165.

851 Prado, J.L., Alberdi, M.T., 2017. *Fossil Horses of South America. The Latin American*
852 *Studies Book Series*, Springer Nature, Switzerland.

853 Prado, J.L., Sanchez, B., Alberdi, M.T., 2011. Ancient feeding ecology inferred from
854 stable isotopic evidence from fossil horses in South America over the past 3
855 Ma. *BMC Ecology* 11, 1-13.

856 Politis, G., 2008. The Pampas and Campos of South America. In “The Handbook
857 of South American Archaeology”, edited by Helaine Silverman, and William
858 H. Isbell, 235–260. New York: Springer.

859 Quade, J., Cerling, T. E., Barry, J. C., Margan, M. E., Pilbeam, D. R., Chivas, A.R.,
860 Lee-Thorp. A., Van der Merwe, N. J., 1992. A 16-Ma record of paleodiet using
861 carbon and oxygen isotopes in fossil teeth from Pakistan. *Chemical Geology*
862 (Isotope Geoscience Section) 94:183-192.

863 Salgado-Labouriau, M.L., 1997. Late Quaternary palaeoclimate in the savannas of
864 south America. *Journal of Quaternary Science* 12, 371-379.

865 Sánchez, B., Prado, J., Alberdi, M., 2006. Ancient feeding, ecology and extinction of
866 Pleistocene horses from the Pampean Region, Argentina. *Ameghiniana*. 43.
867 427-436.

868 Stocker, T., Johnsen, S., 2003. A minimum thermodynamic model for the bipolar
869 seesaw. *Paleoceanography*, VOL. 18, NO. 4, 1087,
870 doi:10.1029/2003PA000920,

871 Tejada-Lara J.V., MacFadden B.J., Bermudez, L., Rojas, G., Salas-Gismondi, R.,
872 Flynn, J.J., 2018. Body mass predicts isotope enrichment in herbivorous
873 mammals. *Proc. R. Soc. B* 285: 20181020.
874 <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2018.1020>

875 Tambussi, C., Ubilla, M., Acosta, C., Perea, D., 2005. Fossil records and
876 palaeoenvironmental implications of *Chloephagapicta* (Gmelin, 1789)
877 (Magellan Goose) and *Cariama cristata* (Linnaeus, 1766) (Seriema) from the
878 Late Pleistocene of Uruguay. *Neues Jarb Geolund Palaeontol Mh* 5:257–268

879 Ubilla, M., Perea, D., Goso, C., Lorenzo, N., 2004. Late Pleistocene vertebrates from
880 northern Uruguay: tools for biostratigraphy, climatic and environmental
881 reconstruction. *Quaternary International* 114, 129-142.

882 Ubilla, M., Corona, A., Rinderknecht, A., Perea, D., Verde, M., 2016. Marine Isotope
883 Stage 3 (MIS 3) and continental beds from Northern Uruguay (Sopas
884 Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini G., Rabassa
885 J., Deschamps, M., Tonni, E. (Eds), *Marine Isotope Stage 3 in Southern South*

886 America, 60 ka BP-30 ka BP. Serie Springer Earth System Sciences, pp. 183–
887 205.

888 Van der Merwe, N.J., Medina, E., 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in
889 Amazonian rain forests. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53(5), 1091–
890 1094.

891 Werneck, P., Nogueira, C., Colli, G., Sites, J., Costa, G., 2012. Climatic stability in
892 the Brazilian Cerrado: implications for biogeographical connections of South
893 American savannas, species richness and conservation in a biodiversity
894
895

Appendix.



Figure 1. Modern Pampas (orange), campos-pampas ecotone (pale green) and campos (dark green). In southern Uruguay there is a different proportion of C_3 - C_4 , than in the northern Uruguay. Sopas Fm. studied area (red circle). Modified from Mourelle et al. (2017).

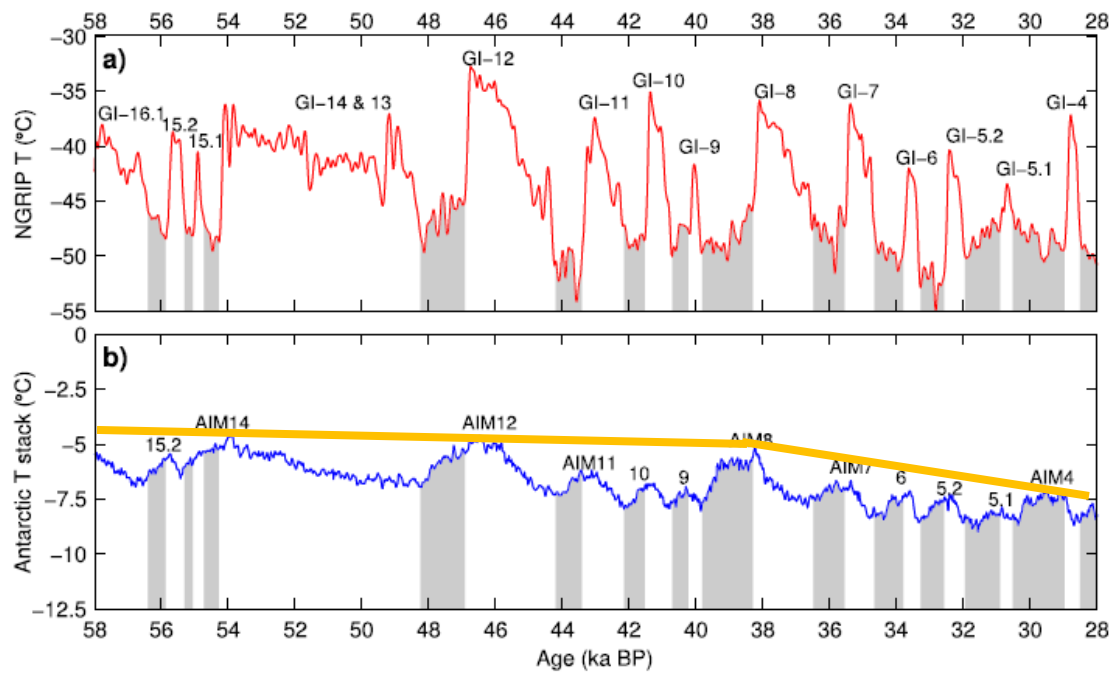


Figure 2: Greenland (a) and Antarctic (b) temperature variations based on ice cores spanning Marine Isotope Stage 3. In b is indicated the relatively warmer interval from 58 to 40 ka with regard to the relatively colder interval from 40 to 28 ka (yellow line) used in our study. Modified from Pedro et al., (2018).

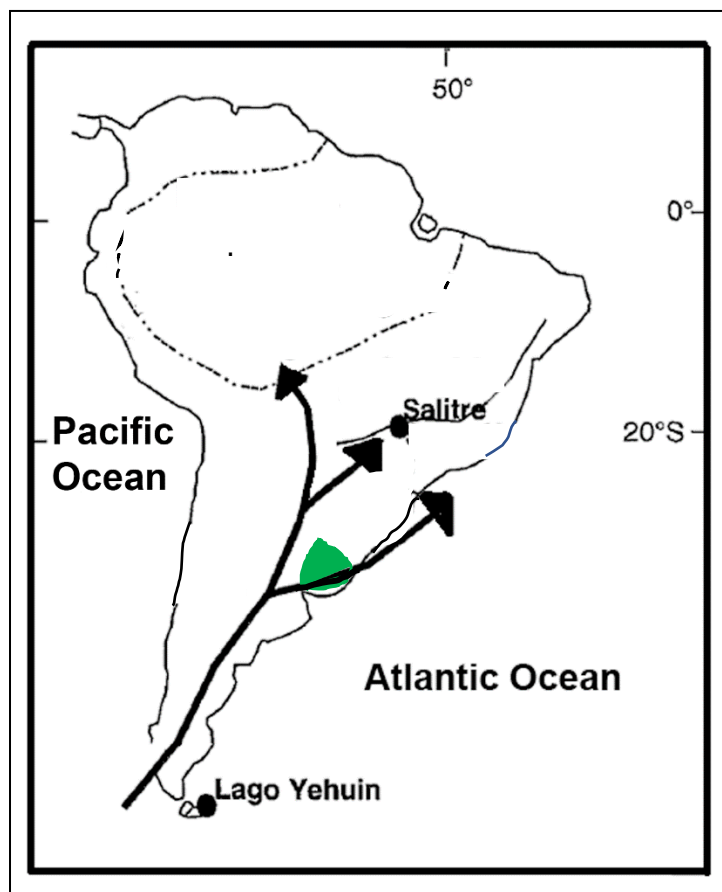


Figure 3. The black lines illustrate the postulated transport of atmospheric properties by air motion as a result of horizontal heterogeneity (polar advections) from high to middle and low latitudes in SA, including the studied area in northern Uruguay (green). Modified from Ledru et al., (1966).

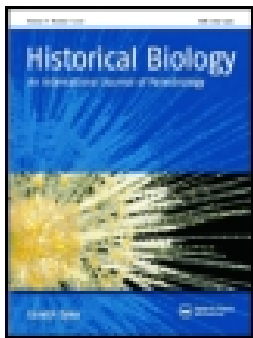
CAPÍTULO 9

Morosi, E., Ubilla, M., 2018. Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay). *Historical Biology* 31, 196-202.

Este capítulo representa un trabajo publicado en revista internacional como avance de la tesis, escrito en inglés y lo consideramos de suma importancia, debido a la poca información existente sobre esta particular especie de ungulado sudamericano extinto.

Neolicaphrium recens es un pequeño ungulado (Proterotheriidae), nativo de Sudamérica. Los especímenes analizados pertenecen a la Fm. Sopas, con una edad OSL de entre 40 y 30 ka. En base a los resultados isotópicos, se puede inferir que ambos especímenes tenían una dieta ramoneadora mixta, de entre 80 y 90 % de C₃ (sin importar el lugar de origen), con tendencia a alimentarse en áreas arboladas sin dosel o sabanas. Al analizar el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{18}\text{O}$ en conjunto, ambos ejemplares de *N. recens* se habrían alimentado tanto de hojas como pastos C₃ (sin descartar los C₄).

Los análisis independientes de microwear y la fauna asociada, apoyan la inferencia de una dieta ramoneadora en espacios semiabiertos.



Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay)

Elizabeth Morosi & Martin Ubilla

To cite this article: Elizabeth Morosi & Martin Ubilla (2017): Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay), *Historical Biology*, DOI: [10.1080/08912963.2017.1355914](https://doi.org/10.1080/08912963.2017.1355914)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/08912963.2017.1355914>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 26 Jul 2017.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Dietary and palaeoenvironmental inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using carbon and oxygen stable isotopes (Late Pleistocene; Uruguay)

Elizabeth Morosi and Martin Ubilla

Facultad de Ciencias, Dpto. Paleontología, ICG, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay

ABSTRACT

The Proterotheriidae (Early Palaeocene–Late Pleistocene) were small to medium sized cursorial native South American ungulates (Order Litopterna), having had its diversity peak in the Miocene. During the Pleistocene, the proterotheriid diversity decreased to a single species, *Neolicaphrium recens* Frenguelli (1921), and few specimens are available from a relatively narrow area at medium latitudes of South America. The first study using stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$) as proxies is provided here, in order to known dietary preferences and testing previous environmental inferences. The analysed specimens belong to outcrops with OSL ages of 40–30 ka (Late Pleistocene, Sopas Formation of northern Uruguay). The $\delta^{13}\text{C}$ results of both specimens suggest that at this latitude and tempo, *N. recens* had browser-feeding preferences, mostly a C_3 diet of open canopy forest in an environment of semi-open woodland or forested savannahs and that C_4 vegetation would have had a small fraction in their diet. $\delta^{18}\text{O}$ data suggests a diet composed mostly by fruits, follow by floor plants, with few indication of a folivore diet. The specialized forest browsing diet does not significantly vary based on its site of origin, since both specimens remain in the same isotopic range.

ARTICLE HISTORY

Received 2 June 2017
Accepted 12 July 2017

KEYWORDS

Diet; stable isotopes;
Neolicaphrium; Late
Pleistocene; Sopas
Formation; Uruguay

Introduction

The Proterotheriidae (Early Palaeocene to Late Pleistocene) were small to medium sized cursorial native South American ungulates of Litopterna Order, which developed an early trend toward a ‘functional monodactily’ (Soria 2001; Bond et al. 2001). The Family shows a high rate of taxonomic replacement and taxonomic richness fluctuations, probably related to climatic–environmental changes (Villafañe et al. 2006). The diversity increases in environments with a relatively balanced relationship between forests and grasslands, such as woodland savannahs and sharply declining in open and arid contexts (Cifelli and Guerrero 1997; Bond et al. 2001; Villafañe et al. 2006).

This South American clade had its diversity peak in the Miocene, reaching more than 20 species when lopho-selenodont dentitions was developed in the ‘Late South American Phase’ of South American mammalian evolution (Villafañe et al. 2006; Goin et al. 2012). However, in the Pleistocene, the proterotheriid diversity decreased to a single species, *Neolicaphrium recens* Frenguelli 1921. Despite Frenguelli (1921) described this species in clear association with Pleistocene fauna (as Alvarez (1974) posteriorly did but explained it as a reworked fossil), the persistence of the Family into the Pleistocene was not accepted until early XXI century, when the proposal of Frenguelli was corroborated by new findings (Bond et al. 2001; Ubilla et al. 2011 and references therein).

N. recens, is registered by few specimens in a relatively narrow area at medium latitudes of South America (centre and north-western Argentina: Santiago del Estero, Córdoba, Corrientes and Santa Fe Provinces; northern Uruguay: Artigas, Salto and Tacuarembó Departments, and probably southern Brazil: Rio Grande do Sul State) (Frenguelli 1921; Alvarez 1974; Tauber 2000; Scherer et al. 2009; Vezzosi 2015; Ubilla et al. 2011; Luna et al. 2015; Gaudioso et al. 2017) (Figure 1).

Bond et al. (2001) and Ubilla et al. (2011) based on the associated fauna, proposed that this medium sized extinct ungulate probably was related to forested and semi-forested environments.

The following study has three main objectives: (i) reconstruct the ancient dietary preferences and habitat of *Neolicaphrium recens*, using for the first-time carbon and oxygen isotopic composition as proxies, (ii) verify the environmental hypothesis formulated by Bond et al. (2001), and (iii) discuss our results with information based on associated fauna, and dental features, in particular the mesodont condition exhibited by this taxon.

Geological setting

The analysed material belongs to the Sopas Formation, a Late Pleistocene sedimentary unit outcropping in northern Uruguay (Tacuarembó, Salto, Río Negro, Paysandú and Artigas Departments) (Figure 1). This unit encompasses conglomerates,

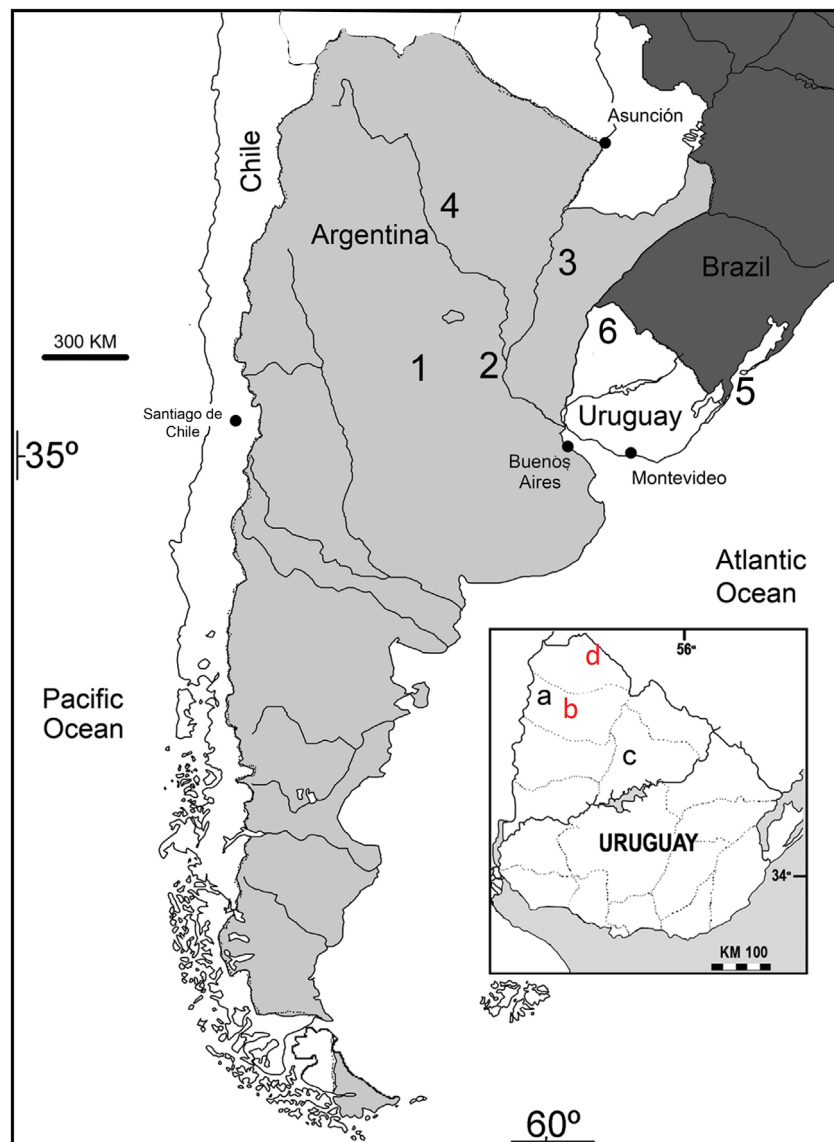


Figure 1. Geographic distribution of *Neolicaphrium recens* and locations of sample material from northern Uruguay: 1: Córdoba (Argentina), 2: Santa Fe (Argentina), 3: Corrientes (Argentina), 4: Santiago del Estero (Argentina), 5: Santa Vitoria do Palmar (Brasil), 6: Salto, Tacuarembó and Artigas (Uruguay). a: Río Arapey Grande (Salto), b: Arroyo Sopas (FC-DPV 776) (Salto), c: Arroyo Malo (Tacuarembó), d: Río Cuareim (MHD-P 509) (Artigas).

Note: Based on Ubilla et al. 2011 (and references therein), Luna et al. (2015) and Gaudioso et al. (2017). Modified from Ubilla et al. 2011.

sandstones and siltstones deposited under fresh-water contexts including fluvial-plains sediments and paleosoils (Ubilla et al. 2016; Ubilla and Martínez 2016). In the light of numerical ages, the Sopas Formation is mostly correlated with the Marine Isotope Stage 3 (MIS 3, last 60 to 25 ka) and few outcrops reach the latest Pleistocene (Ubilla et al. 2016). Its fossil content includes fossil-traces, woods, terrestrial and fresh-water molluscs and vertebrates (dominated by mammals), suggesting a variety of habitats from fresh-water contexts to riparian forest and open to semi-forested areas (Ubilla and Martínez 2016).

Isotopic background

In the last years, the use of light stable isotopes in Pleistocene South American mammals has been successfully increased (Macfadden et al. 1999; Domingo et al. 2012; Dantas et al. 2013; Prado et al. 2015; among others), and have contributed

to understand the feeding paleoecology of extinct species and associated environment (de Melo França et al. 2014).

Carbon isotopes have proven to be a useful tool in diet studies, since the different photosynthetic pathways impart different $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios ($\delta^{13}\text{C}$), due to a process called fractionation that happens in plant tissues (Bender 1971). Tropical grasses and sedges using Hatch-Slack mode (C_4 photosynthetic pathway) are relatively enriched in the heavy carbon isotope (^{13}C), and range from -9 to -19‰ (Ehleringer et al. 1986, 1991; Cerling et al. 1997). On the other hand, plants that employ Calvin fixation cycle (C_3 photosynthetic pathway), including most trees and shrubs, as well as grasses in regions with cool growing seasons, are relatively depleted in ^{13}C , and typically range from -22 to -35‰ (Ehleringer et al. 1986, 1991; Cerling et al. 1997). A third photosynthetic pathway is called CAM (crassulacean acid metabolism), which is an adaptation to arid environment, but very few extant ungulates use them as a significant part of their

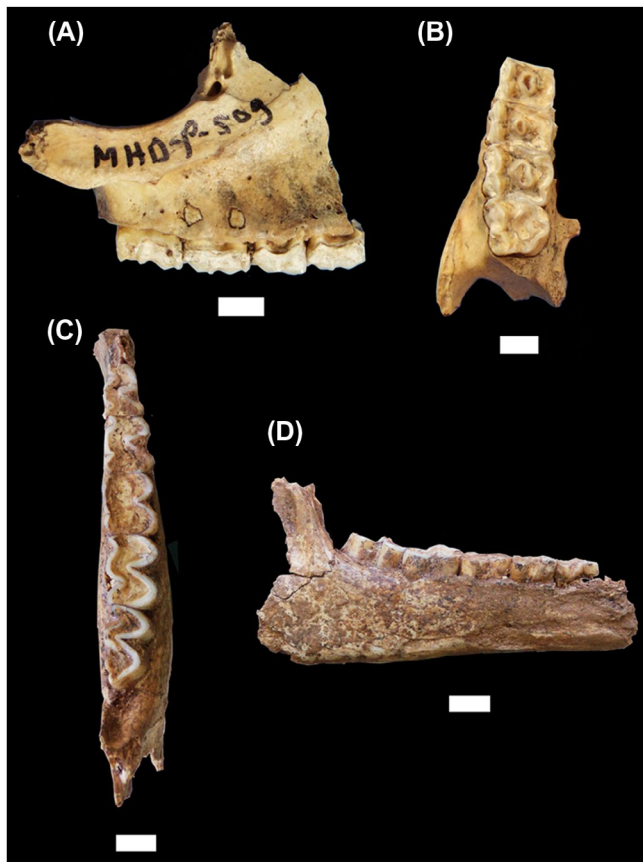


Figure 2. Specimens of *Neolicaprium recens* of northern Uruguay used in the isotopic study. Lateral and occlusal view of MHD-P 509 (A, B) and FC-DPV 776 (C, D). Note: Scale: 1 cm.

diet (Ehleringer et al. 1991). As a result, carbon isotopes provide a natural marker system to track herbivore diets (Ambrose and DeNiro 1986; van der Merwe and Medina 1989), since $\delta^{13}\text{C}$ in animals reflect the $\delta^{13}\text{C}$ of food source (Ambrose and DeNiro 1986). The carbon isotopic composition determines the fraction of C_3 or C_4 biomass in diets and it is possible to distinguish among mammals using different C_4 photosynthesis sub-pathways and identify those whose C_3 diet is derived from closed or open canopy habitats (Cerling and Harris 1999). The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ lower values represent forest floors where plants are shaded and under less evaporative stress, whereas the less depleted ones represent open habitats such as savannah or forest upper canopies where light and evaporative stresses are higher (Van der Merwe and Medina 1991; Bocherens 2003; Nelson 2013).

Carbon and oxygen isotopic values in tooth enamel reflect the isotopic values of diet and drinking habits during tooth formation (van der Merwe and Medina 1991; Cerling et al. 1997).

Among browsers, these differences in isotopic composition of C_3 vegetation may be used to indicate subtle dietary differences (Bocherens 2003; Cerling et al. 2004). Some investigations suggest that $\delta^{18}\text{O}$ values in tooth enamel carbonate provide additional information about fossil taxa habitat and diet (Bocherens et al. 1996; Cerling et al. 1997; de Melo França et al. 2015), since mammalian tissues incorporate food and water at a constant temperature, $\delta^{18}\text{O}$ values track local environmental conditions (Kohn et al. 1996). This makes oxygen isotopes well suited for differentiating species that forage at different habitats or canopy

heights and allow to distinguish frugivores from folivores and from floor plant eaters, since it is expected that fruits have lower values of $\delta^{18}\text{O}$ than leaves, due to leaves transpiration in one hand and the high moisture content present in fruits in the other (Nelson 2013; de Melo França 2014). Following the interpretations made for primates by Nelson (2013), de Melo França et al. (2014) applied them to herbivorous with C_3 plants in their diet, where three categories could be differentiated by $\delta^{18}\text{O}$ values: those $\delta^{18}\text{O}$ more negative than -1.3‰ suggests a diet mostly of forest floor plants, values near 0.6‰ suggests frugivorous diet, and $\delta^{18}\text{O}$ values greater than 2.1‰ suggest a folivore one. When $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ data is taken together, they help to uncover subtle ecological information such as habitats, predominant food types (suggesting what plant parts they fed on), and ecological niche (Crowley 2014).

Material and methods

Abbreviations – FC-DPV: Colección Paleontológica (Vertebrados Fósiles) de la Facultad de Ciencias, Montevideo (Uruguay); IRMS: Isotope Ratio Mass Spectrometry; MHD-P: Museo Histórico Departamental de Artigas (Artigas); OSL: Optically Stimulated Luminescence; SIL: Stable Isotope Laboratories, School of Environmental Sciences, University of East Anglia (UEA), England.

Since our goal is to recognize the diet in adult specimens, preferences were given to sampling the third molar, due to these teeth are among the last ones to develop, mineralize, and erupt in ungulates (Hillson 1986).

A sample was taken from M3 belonging to specimen MHD-P 509 assigned to *N. recens* (Corona et al. 2016) that hold the P4-M3 series (Sopas Formation, Cuareim River, Artigas Department). OSL age of $36,100 \pm 6,200$ years was reported and is associated to the material (Ubilla et al. 2016). A sample from m3 material was taken from specimen FC-DPV 776 (Sopas Formation, Sopas creek, Salto Department), described in Bond et al. (2001). OSL ages of $43,500 \pm 3,600$ to $30,600 \pm 5,400$ years were referred for the outcrops (Ubilla 2004; Ubilla and Martínez 2016). (Figures 1–2 and Supplemental Online Material 1).

To infer the kind of diet of *N. recens*, the obtained values of $\delta^{13}\text{C}$ were compared with those proposed by Cerling and Harris (1999), that distinguish among guilds, after taking into account the $\delta^{13}\text{C}$ enrichment ($14.1 \pm 0.5\text{‰}$) between diet and tooth bioapatite for wild mammals ($>5 \text{ kg}$). $\delta^{13}\text{C}$ tooth enamel values in the range of -20‰ and -8‰ , are considered C_3 browsers, that feed on trees and shrubs, -2‰ or more, reflect a diet of pure grazing on C_4 grasses or sedges in environments with hot, wet growing seasons, and between -8 to -2‰ suggest a mixed (C_3/C_4) or intermediate diet (Hofmann and Stewart 1972; Cerling and Harris 1999). These values are not cut-off points for pure C_3 or C_4 diets, but instead represent diets that are dominated by one particular photosynthetic pathway (Cerling and Harris 1999). Lowest $\delta^{13}\text{C}$ enamel values, between -20 and -13‰ indicate mammals fed in a closed canopy woodland environment (Drucker et al. 2003; Cerling et al. 2004), whereas less negative $\delta^{13}\text{C}$, between -13 and -8‰ , indicate feeding preferences of riparian or semi-open forest. (Cerling and Harris 1999). It is due to photosynthetic use of ^{13}C -depleted CO_2 from biomass

recycling and lower light intensities (Medina et al. 1986; Van der Merwe and Medina 1989).

The general method for stable isotope tooth enamel sampling follows Koch et al. (1997). The emphasis on working with tooth enamel from mineral phase of paleontological calcified tissues is based on the widespread understanding that it remains as a relatively closed system (Thorp and Van Der Merwe 1987), it is less prone to diagenesis and is a realistic recorder of diet in geological record (Wang and Cerling 1994; Koch et al. 1997; MacFadden et al. 2010).

Pre-treatments and isotopic analyses were performed during an internship at SIL (2016) by one of us (E.M.) (Details in Supplemental Online Material 2).

Enamel aliquots were analysed using IRMS. Carbon and oxygen isotopic ratios of tooth enamel apatite are reported in standard notation as $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$, and calculated in units of per mil (‰), which relate to international scales (Peterson and Fry 1987). Results are reported relative to the isotope standard, using the notation:

$$\delta^{13}\text{C} \text{ or } \delta^{18}\text{O} = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}} - 1) \times 1000$$

where R sample and R standard are the ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ or $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) of sample and standard relative to the international carbonate standard Vienna Pee Dee Belemnite (vPDB).

Before any statistical analysis, the isotopic data were corrected by adding -0.2‰ to $\delta^{13}\text{C}$ and $+1.0\text{‰}$ to $\delta^{18}\text{O}$, due to the performed pre-treatment (Koch et al. 1997). Quantitative analyses were carried out with Excel (2016), and Bayesian mixing model approach performed in R (Parnell et al. 2010) with SIAR and SIBER packages (2016).

Results

$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ values of carbonate in the phosphate of *N. recens* teeth are given in Table 1 and illustrated in Figure 3. *Neolicaphrium recens* MHD-P 509 has a $\delta^{13}\text{C}$ mean value of $-10.60 \pm 0.59\text{‰}$, and yield a range from -11.08 to -9.77‰ . $\delta^{18}\text{O}$ are from -1.48 to 0.21‰ (mean $-0.98 \pm 0.79\text{‰}$). *N. recens* FC-DPV 776 show a $\delta^{13}\text{C}$ mean value of $-11.70 \pm 0.37\text{‰}$ and range from -12.21 to -11.28‰ . $\delta^{18}\text{O}$ results are from 0.14 to 0.64‰ (mean $0.38 \pm 0.17\text{‰}$).

Discussion

Associated fauna

The selected specimens have good stratigraphic information and are associated to OSL ages of the bearing outcrops, which roughly encompass the interval 40 to 30 ka (Supplemental Online Material 1). Inferences based on $\delta^{13}\text{C}$ isotopic studies have to consider that latitude and geological age are significant input in order to delimitate interpretations. In this sense, the explanation of feeding habits and environments provided here should apply for the specimens of *N. recens* living in northern Uruguay around last 40 to 30 ka. It is important to highlight that some specimens from Argentine and southern Brazil have stratigraphic uncertainties or are older than the here analysed.

The Sopas Formation has been lately characterized as a mixed climatic fauna (Ubilla et al. 2016). Its fossil content come from fluvial contexts including fluvial-plain deposits and paleosoils, and some species of the mammalian assemblage (especially *Tapirus terrestris*, *Hydrochoerus* cf. *H. hydrochaeris*, *Lundomys molitor*, and *Lontra longicaudis*) are indicatives of riparian forest and streams (Ubilla and Perea 1999; Ubilla et al. 2016). There are also recorded mammals and birds taxa that suggest the presence of forested to semi-open areas like extinct horses *Equus neogaeus* and *Hippidion principale*, the deer *Mazama* sp., *Cariama* sp., *Rhea* sp., among others (Bond et al. 2001; Ubilla et al. 2016). In the other hand, it has been argued that the remains of the Protheriidae family seem to be more frequent in fossil assemblages related to forested environments (Bond et al. 2001).

Isotopic interpretations

If the limits of interpretation are simplified, and the mean between $\delta^{13}\text{C}$ tooth enamel result and diet, ($\delta^{13}\text{C}_{\text{enamel}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{diet}}$) is used, a value of $\delta^{13}\text{C} = -13$ correspond to browser guild and $\delta^{13}\text{C} = +1$ correspond to grazer guild (Cerling and Harris 1999). This simplification allows to calculate the assimilated proportion of C_3 and C_4 plants in *N. recens* using mixing model equations for two preys (Phillips 2012). These results allow to infer that MHD-P 509 diet included 83% of C_3 plants, while FC-DPV 776 diet had a 91% (Supplemental Online Material 3). Although both specimens had a high consumption of C_3 plants, they could had fed on C_4 plants as well or included other sources of carbon in their diet, such as mushrooms, mud for lack of minerals or small animals (i.e. arthropods) to complement protein intake, like

Table 1. *Neolicaphrium recens* carbon and oxygen isotopic values obtained from aliquots of MHD-P 509 and FC-DPV 776.

Sample ID user	Sample ID lab	$\delta^{13}\text{C}$	Min	MAX	Mean	SD	$\delta^{18}\text{O}$	Min	MAX	Mean	SD
MHD-P 509	uea71221	-9.77					0.21				
MHD-P 509	uea71222	-10.57					-1.23				
MHD-P 509	uea71317	-10.97					-1.48				
MHD-P 509	uea71318	-11.08					-1.40				
MHD-P 509			-11.08	-9.77	-10.60	0.59		-1.48	0.21	-0.98	0.79
FC-DPV 776	uea71223	-11.28					0.14				
FC-DPV 776	uea71224	-11.73					0.49				
FC-DPV 776	uea71319	-11.60					0.35				
FC-DPV 776	uea71320	-11.34					0.31				
FC-DPV 776	uea71225	-12.05					0.64				
FC-DPV 776	uea71226	-12.21					0.35				
FC-DPV 776			-12.21	-11.28	-11.70	0.37		0.14	0.64	0.38	0.17

Note: Values are given in vPDB

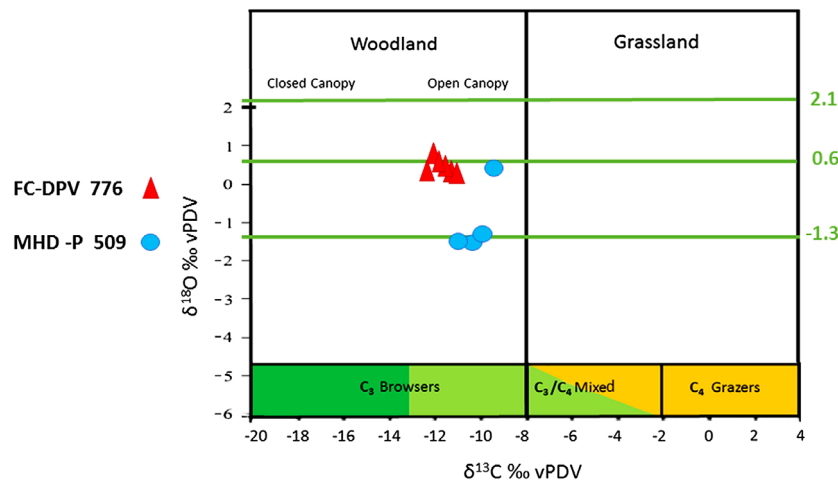


Figure 3. *Neolicaphrium recens* carbon and oxygen isotopic values scattered plot.

Notes: $\delta^{13}\text{C}$ distinguish among guilds (grazers, mixed and browsers), and within browsers, between open canopy and closed canopy diets. Mammals with C_3 plants in their diet are differentiated by $\delta^{18}\text{O}$ values in three categories: forest floor plants diet present values more negative than -1.3‰ , values near 0.6‰ suggests frugivorous diet, and greater than 2.1‰ a folivore one (Nelson 2013). $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ are given in ‰ VPDV .

extant deer *Mazama* spp. (Richard and Juliá 2001). Preliminary results of an ongoing work on ungulates of the Sopas Formation and on extant deer, suggest a distinction between species associated with different diets and feeding strategies, from browsers of forest floor with lowest $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ to grazers in open habitat with highest $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ and a wide variations in between (Morosi and Ubilla 2014).

Following the interpretations made for primates by Nelson (2013), and applied by de Melo França et al. (2014) to ungulates, when our $\delta^{18}\text{O}$ data is analysed (Table 1, Figure 3), FC-DPV 776 has a mean $\delta^{18}\text{O} = +0.38$, meaning it could have had fruits as a principal component of its diet, while MHD-P 509 has more negative value $\delta^{18}\text{O} = -0.98$, still in frugivore range, but suggesting it could fed on floor plants too. Regarding the data, tree or bush leaves were less important in their diet and they consume very few C_4 plants. It should be highlighted, that this inference follows a model based in the assumption that water is mostly incorporated from food (Nelson 2013), but if water was obtained from another source (i.e. stream or lakes), this isotopic values could be influenced in some extent by this context.

Teeth and isotopes

Herbivorous mammals often exhibit specialized diets, in connection with their tooth morphology and digestive physiology. In general, it has long been considered that ungulates with high-crowned teeth (hypsodonts) are dominantly grazers; medium-crowned teeth (mesodont) have mixed diet and low-crowned teeth (brachydonts) are browsers. However, this conventional view has been challenged and unexpected patterns were detected among ungulates (DeMiguel et al. 2008; Damuth and Janis 2011; Jardine et al. 2012). Species with a high proportion of dietary browse can still yield high tooth crowns, even being hypsodont, like *Antilocapra americana*, in environments with dust and grip (Damuth and Janis 2011). Species with mesodont dentition use to have a browser tendency, feeding on leaves of trees and bushes (Beaver and Brussard 2004; Álvarez-Romero and Medellín 2005).

N. recens premolars and molars are relatively high crown compared with other proterotherids, but still mesodont, not reaching the hypsodont category, surrounded by a layer of cementum (Bond et al. 2001). This relatively high mesodonty values along with the presence of cementum in molariforms, was invoked to suggest an adaptation to forested, savannah-like habitats (Bond et al. 2001), which is in agreement with the information provided by the associated fauna (Ubilla et al. 2004). As stated above, our isotopic results support a browser semi-open woodland lifestyle and endorse the environmental hypothesis formulated by Bond et al. (2001).

Concomitantly, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ results are consistent with data from preliminary studies using dental microwear analyses, performed in the same fossils remains (Corona et al. 2016). These analyses also support the idea that *N. recens* from Sopas Formation were browse feeders, with a selective diet, consuming mostly soft leaves and fruits (Corona et al. 2016).

Concluding remarks

The $\delta^{13}\text{C}$ data suggest that the specimens of *Neolicaphrium recens* living in northern Uruguay around last 40 to 30 ka (Late Pleistocene) had browser-feeding preferences, with a diet based mostly on C_3 plants in a forested savannas, probably including riparian wooded habitat.

If $\delta^{18}\text{O}$ data is taking together with the $\delta^{13}\text{C}$, both specimens seem to fed mostly on the canopy frugivore range, including some floor plants, while leaves were less important.

These isotopic results along with the information provided by the associated fauna and teeth support the browser semi-open woodland lifestyle and the environmental hypothesis anticipated by Bond et al. (2001). In addition, the inferred diet is also congruent with independent studies of microwear analyses.

Acknowledgments

To curators of collections Alejandra Rojas (FC-DPV) and José Soloviy (MHD-P) for allow us to study the material, Paul Dennis and Alina Marca from SIL. Three anonymous reviewers and Editor G. Dyke for improvements of manuscript.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by Pedeciba (PhD thesis and Partial Internship 2016 (E.M.)); British Council through British Embassy in Uruguay, 2015 (E.M.); CSIC [Project 260-348, 2014] (E.M.); CSIC [Project C-211-348] (M.U.); and Prosul [2009–2011], (A.M.).

References

- Alvarez BB. 1974. Los mamíferos fósiles del Cuaternario de Arroyo Toropí, Corrientes (Argentina). *Ameghiniana*. 11:295–311.
- Álvarez-Romero J, Medellín RA. 2005. *Equus burchellii*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales: Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB – CONABIO, Proyecto U020, México, D. F.: 7.
- Ambrose SH, DeNiro MJ. 1986. The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*. 69(3):395–406.
- Beaver EA, Brussard PF. 2004. Community- and landscape-level responses of reptiles and small mammals to feral-horse grazing in the Great Basin: *J Arid Environ*. 59:271–297.
- Bender MM. 1971. Variations in the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of plants in relation to the pathway of photosynthetic carbon dioxide fixation. *Phytochemistry*. 10(6):1239–1244.
- Bocherens H. 2003. Isotopic biogeochemistry and the paleoecology of the mammoth steppe fauna. *Deinsea*. 9(57):e76.
- Bocherens H, Koch PL, Mariotti A, Geraads D, Jaeger JJ. 1996. Isotopic biogeochemistry ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$) of mammalian enamel from African Pleistocene hominid sites. *Palaos*. 11:306–318.
- Bond M, Perea D, Ubilla M, Tauber A. 2001. *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921, the only surviving Protheroheriidae (Litopterna, Mammalia) into the South American Pleistocene. *Paleovertebr*. 30:37–50.
- Cerling TE, Harris JM. 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia*. 120(3):347–363.
- Cerling TE, Harris JM, MacFadden BJ, Leakey MG, Quade J, Eisenmann V, Ehleringer JR. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature*. 389(6647):153–158.
- Cerling TE, Hart JA, Hart TB. 2004. Stable isotope ecology in the Ituri forest. *Oecologia*. 138(1):5–12.
- Cifelli RR, Guerrero J. 1997. Litopterns. In: Kay R, Madden R, Cifelli R, Flynn J, editors. *Vertebrate Paleontology in Neotropics*. The Miocene fauna of La Venta, Colombia. Washington, DC: Smithsonian Institution Press; p. 289–302.
- Corona A, Perea D, Ubilla M. 2016. Preferencias alimentarias de *Neolicaphrium recens* en base a análisis de microdesgaste dentario. *Actas XI Congreso de la Asociación Paleontológica Argentina*; p. 34–35.
- Crowley BE. 2014. Oxygen isotope values in bone carbonate and collagen are consistently offset for New World monkeys. *Biol Lett*. 10:20140759. Available from: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0759>
- Damuth J, Janis CM. 2011. On the relationship between hypsodonty and feeding ecology in ungulate mammals and its utility in palaeoecology. *Biol Rev*. 86:733–758.
- Dantas MAT, Dutra RP, Cherkinsky A, Fortier DC, Kamino LHY, Cozzuol MA, Vieira FS. 2013. Paleoeology and radiocarbon dating of the Pleistocene megafauna of the Brazilian Intertropical Region. *Quat Res*. 79(01):61–65.
- de Melo França L, Dantas MAT, Bocchiglieri A, Cherkinsky A, de Souza Ribeiro A, Bocherens H. 2014. Chronology and ancient feeding ecology of two upper Pleistocene megamammals from the Brazilian Intertropical Region. *Quat Sci Rev*. 99:78–83.
- de Melo França L, de Azevedo L, Dantas MAT, Bocchiglieri A, dos Santos Avilla L, Lopes RP, da Silva JLL. 2015. Review of feeding ecology data of Late Pleistocene mammalian herbivores from South America and discussions on niche differentiation. *Earth Sci Rev*. 140:158–165.
- DeMiguel D, Fortelius M, Azanza B, Morales J. 2008. Ancestral feeding state of ruminants reconsidered: earliest grazing adaptation claims a mixed condition for Cervidae. *BMC Evol Biol*. 8(1):13.
- Domingo L, Prado JL, Alberdi MT. 2012. The effect of paleoecology and paleobiogeography on stable isotopes of Quaternary mammals from South America. *Quat Sci Rev*. 55:103–113.
- Drucker D, Bocherens H, Bridault A, Billiou D. 2003. Carbon and nitrogen isotopic composition of red deer (*Cervus elaphus*) collagen as a tool for tracking palaeoenvironmental change during the Late-Glacial and Early Holocene in the northern Jura (France). *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*. 195(3–4):375–388.
- Ehleringer JR, Field CB, Lin ZF, Kuo CY. 1986. Leaf carbon isotope and mineral composition in subtropical plants along an irradiance cline. *Oecologia*. 70(4):520–526.
- Ehleringer JR, Sage RF, Flanagan LB, Pearcy RW. 1991. Climate change and the evolution of C4 photosynthesis. *Trends Ecol Evol*. 6(3):95–99.
- Frenguelli J. 1921. Sobre un proterotérido del Pampeano superior de Córdoba, *Neolicaphrium recens*, nov. *Actas Acad Nac Cienc Córdoba*. 7:7–23.
- Gaudioso PJ, Gasparini GM, Herbst R, Bárquez RM. 2017. First record of the *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Mammalia, Litopterna) in the Pleistocene of Santiago del Estero Province, Argentina. *Papéis Avulsos de Zoologia. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brasil*. 57(3):23–29.
- Goin FJ, Gelfo J, Chornogubsky L, Woodburne M, Martin T. 2012. Origins, radiations and distribution of South American mammals: from Greenhouse to Icehouse worlds. In: Patterson B, Costa L, editors. *Bones, clones and biomes. The history and geography of recent neotropical mammals*. Chicago, IL: The University of Chicago Press; p. 20–50.
- Hillson S. 1986. *Teeth*. Cambridge: Cambridge Univ. Press; p. 376.
- Hofmann RR, Stewart DRM. 1972. Grazer or browser: a classification based on the stomach-structure and feeding habits of East African ruminants. *Mammalia*. 36(2):226–240.
- Jardine P, Janis C, Sahnay S, Benton M. 2012. Grit no grass: concordant patterns of early origins of hypsodonty in Great Plains ungulates and Glires. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*. 365:1–10. doi:10.1016/j.palaeo.2012.09.001.
- Koch PL, Tuross N, Fogel ML. 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *J Archaeol Sci*. 24(5):417–429.
- Kohn MJ, Schoeninger MJ, Valley JW. 1996. Herbivore tooth oxygen isotope compositions: effects of diet and physiology. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 60(20):3889–3896.
- Luna CA, Schmidt GI, Ochoa JG. 2015. Nuevos registros de *Neolicaphrium recens* Frenguelli (Litopterna, Protheroheriidae) procedentes de corralito (Pleistoceno tardío-Holoceno temprano), Córdoba. *Argentina Ameghiniana*. 53(1):20.
- MacFadden BJ, Cerling TE, Harris JM, Prado J. 1999. Ancient latitudinal gradients of C3/C4 grasses interpreted from stable isotopes of New World Pleistocene horse (*Equus*) teeth. *Glob Ecol Biogeogr*. 8(2):137–149.
- MacFadden BJ, DeSantis LR, Hochstein JL, Kamenov GD. 2010. Physical properties, geochemistry, and diagenesis of xenarthran teeth: Prospects for interpreting the paleoecology of extinct species. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*. 291(3–4):180–189.
- Medina E, Montes G, Cuevas E, Rokzandic Z. 1986. Profiles of CO₂ concentration and $\delta^{13}\text{C}$ values in tropical rain forests of the upper Rio Negro Basin, Venezuela. *J Trop Ecol*. 2(03):207–217.
- Morosi E, Ubilla M. 2014. Preliminary report on isotopic studies ($\delta^{13}\text{C}$) in living and Late Pleistocene ungulates of Uruguay: paleoecological inferences. *Abstr Volume 4th International Paleontological Congress*: 758.
- Nelson SV. 2013. Chimpanzee fauna isotopes provide new interpretations of fossil ape and hominin ecologies. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 280(1773):20132324.
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL. 2010. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. *PLoS One*. 5(3):e9672.

- Peterson BJ, Fry B. 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu Rev Ecol Sys.* 18(1):293–320.
- Phillips D. 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing models. *J Mam.* 93(2):342–352.
- Prado J, Martínez-Maza C, Alberdi MT. 2015. Megafauna extinction in South America: a new chronology from the Argentine pampas. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 425:41–49.
- Richard E, Juliá JP. 2001. Diet of *Mazama gouazoubira* (Mammalia, Cervidae) in a secondary environment of Yungas, Argentina. *Iheringia Série Zoologia.* 90:147–156.
- Scherer C, Gregis Pitana V, Ribeiro AM. 2009. Protherotheriidae and Macraucheniidae (Litopterna, Mammalia) from the Pleistocene of Rio Grande do Sul State, Brazil. *Revista Brasileira Paleontologia.* 12:231–246.
- SIAR and SIBER Programs. 2016. Stable isotope analysis in R. Available from: <https://cran.r-project.org/>
- Soria MF. 2001. Los Protherotheriidae (Litopterna, Mammalia), sistemática, origen y filogenia. Monografías del Museo Argentino de Ciencias Naturales. 1:1–167.
- Tauber A. 2000. Hallazgos de Protherotheriidae (Mammalia, Litopterna) en el Pleistoceno de Córdoba. *Argentina Ameghiniana.* 37:157–162.
- Thorp JL, Van Der Merwe NJ. 1987. Carbon isotope analysis of fossil bone apatite. *S Afr J Sci.* 83(11):712–715.
- Ubilla M. 2004. Mammalian biostratigraphy of Pleistocene fluvial deposits in northern Uruguay, South America. *Proc Geol Assoc.* 115:347–357.
- Ubilla M, Martínez S. 2016. Geology and paleontology of the quaternary of Uruguay. New York (NY): Springer Briefs in Earth System Sciences.
- Ubilla M, Perea D. 1999. Quaternary vertebrates of Uruguay: biostratigraphic, biogeographic and climatic overview. *Quat South Am and Antartc Pen.* 12:75–90.
- Ubilla M, Perea D, Bond M, Rinderknecht A. 2011. The first cranial remains of the Pleistocene protherotheriid *Neolicaphrium* Frenguelli, 1921 (Mammalia, Litopterna): a comparative approach. *J Vertebr Paleontol.* 31(1):193–201.
- Ubilla M, Corona A, Rinderknecht A, Perea D, Verde M. 2016. Marine Isotope Stage 3 (MIS 3) and continental beds from Northern Uruguay (Sopas Formation): paleontology, chronology, and climate. In: Gasparini GM, Rabassa J, Deschamps MC, Tonni EP, editors. *Marine Isotope Stage 3 in Southern South America, 60 KA BP-30 KA BP.* Serie Springer earth system sciences. Cham: Springer International Publishing; p. 183–205.
- Van der Merwe NJ, Medina E. 1989. Photosynthesis and $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in Amazonian rain forests. *Geochim Cosmochim Acta.* 53(5):1091–1094.
- Van der Merwe NJ, Medina E. 1991. The canopy effect, carbon isotope ratios and foodwebs in amazonia. *J Archaeol Sci.* 18(3):249–259.
- Vezzosi RI. 2015. Diversidad y evolución de los mamíferos del Pleistoceno de la provincia de Santa Fe [Tesis doctoral]. Argentina: Universidad de la Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Villafañe A, Ortiz-Jaureguizar E, Bond M. 2006. Cambios en la riqueza taxonómica y en las tasas de primera y última aparición de los Protherotheriidae (Mammalia, Litopterna) durante el Cenozoico. *Estudios Geológicos.* 62:155–166.
- Wang Y, Cerling TE. 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol.* 107:281–289.

SUPPLEMENTAL ONLINE MATERIAL

Dietary and Palaeoenvironmental Inferences in *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921 (Litopterna, Proterotheriidae) using Carbon and Oxygen Stable Isotopes (Late Pleistocene; Uruguay).

Morosi E and Ubilla M.

Dpto. Paleontología, ICG, Facultad de Ciencias

Iguá 4225. 11400

Montevideo, Uruguay

1- Stratigraphic location and OSL ages



A: Geologic profile of the Sopas Formation at the Cuareim River (Artigas Department) where sandstones and siltstones predominate. At the top of the profile occurs a carbonate level (“caliche”). Below the “caliche” level was collected the material MHD-P-509 (Prosul fieldworks). **B:** MHD-P-509 in situ before collecting. Arrow indicates the sample location for OSL, closely related to the MHD-P-509 and the age obtained (Ubilla et al. 2016).

**A**

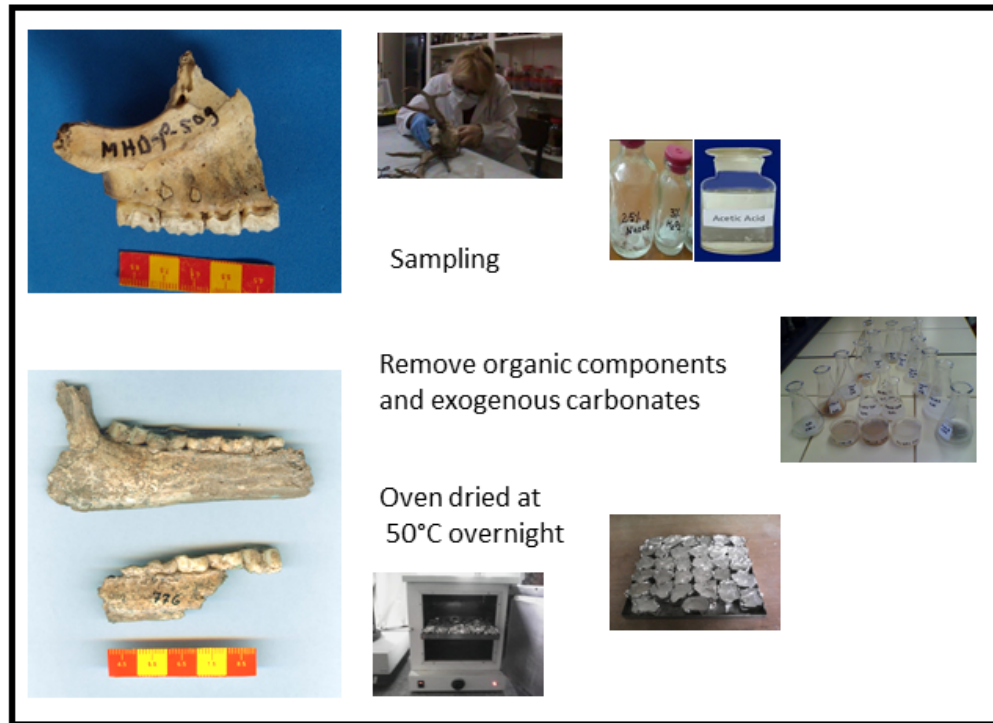
→ OSL 30,600 +/- 5,400

**B**

→ OSL 43,500 +/- 3,600

A-B: Geologic profiles of the Sopas Formation at the Sopas Creek (Salto department) related to the FCDP-V-776. **A:** a large paleocave from a sample for OSL was taken. Arrow indicates the age obtained (Prosul fieldworks, Ubilla et al. 2016). **B:** arrow indicates the site where a sample for OSL was obtained (Ubilla 2004).

2.- Material and Methods



Prior to sampling, tooth cement was removed and enamel surface mechanically cleaned. Bulk samples were taken all along a non-occlusal surface parallel to the growth axis and across its entire length using 0.5 mm inverted cone carbide drill bit and a variable-speed dremely rotary tool. About 50 mg of powder was collected and grounded into finer powder using an agate mortar and pestle. The enamel sample prepared in this way provides an average isotopic signal for the tooth growth period. Powder samples were pre-treated to remove organic contaminants and adsorbed carbonates according to the procedure of Koch et al. 1997 and Balasse et al. 2003 as follows:

Enamel powder was pre-treated in 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl) for 24 hours to oxidize and remove any possible organic contaminants; the NaOCl was

then decanted and rinsed five times with distilled water. After that, it was treated with 0.1 M acetic acid for another 24 hours to dissolve and remove exogenous carbonate, rinsed five times with distilled water, and dried in an oven at 50 ° C overnight after Balasse et al. 2003. These treatments remove organic matter and secondary and adsorbed carbonates without introducing significant isotopic fractionation. The key to obtaining reliable results is the concentration consistency in the used solutions to sample and the time for each treatment step (Koch et al. 1997). The powder/solution ratio was kept constant to 0.04 g/ml for both treatments.

CO₂ was obtained by reacting approximately 0.8 mg of treated enamel powder with 103% orthophosphoric acid (H₃PO₄) at 80°C, before starting five measurement cycles of alternate sample and pattern of produced CO₂ isotopic composition. An Isotope Ratio Mass Spectrometer Europa SIRA hybrid (Series II VG Isogas Limited), interfaced with an elemental analyzer was employed at SIL facilities. The measured carbon and oxygen isotopic compositions were normalized to the in-house Carrara Marble calcite standard, which has been calibrated against the NBS-19 calcite standard. The normalization incorporates the CO₂-carbonate acid fractionation factor for calcite, which was assumed to be similar to that of the carbonate in phosphate. Analytical precision for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ was better than $\pm 0.1\%$, based on replicate analyses of samples and standards.

3.- Mixing models

Dietary mixing models consist of mathematical equations that explain the isotopic composition of observed consumer as a mixture of assimilated diet based on isotopic mass balance (Phillips 2012).

$$1^{\text{st}}) \quad \delta^{13}\text{C}_{\text{mix}} = f_1 \delta^{13}\text{C}_1 + f_2 \delta^{13}\text{C}_2$$

$$f_1 + f_2 = 1$$

The 1st equation expresses consumer $\delta^{13}\text{C}$ (subscript mix) as a combination of the $\delta^{13}\text{C}$ of two preys (C_3 and C_4 , subscripts 1 and 2), weighted by their diet fractions (f_1 and f_2 , respectively). The diet fractions are subject to the constraint that they sum 1 (f_1 and f_2 equation). In mathematical terms, this system of two equations and two unknowns (f_1 and f_2) has a unique solution (Phillips 2012). One way of solving is to algebraically rearrange the equations as:

$$\text{b) } f_1 = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{mix}} - \delta^{13}\text{C}_2}{\delta^{13}\text{C}_1 - \delta^{13}\text{C}_2}$$

$$f_2 = 1 - f_1$$

then substituting:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{mix}} (\text{Specimen MHD-P 509}) = -10.6$$

$$C_3 = \delta^{13} C_1 = -13$$

$$C_4 = \delta^{13} C_2 = +1$$

$$f_1 = \frac{-10.6 - (+1)}{-13 - (+1)} = 0.83 \longrightarrow C_3 = 83 \%$$

$$f_2 = 1 - 0.83 = 0.17 \longrightarrow C_4 = 17 \%$$

We obtain that MHD-P 509 had a diet composed by 83 % of C_3 plants and 17 % of C_4 .

Substituting:

$$\delta^{13} C_{\text{mix}} (\text{Specimen FC-DPV 776}) = -11.7$$

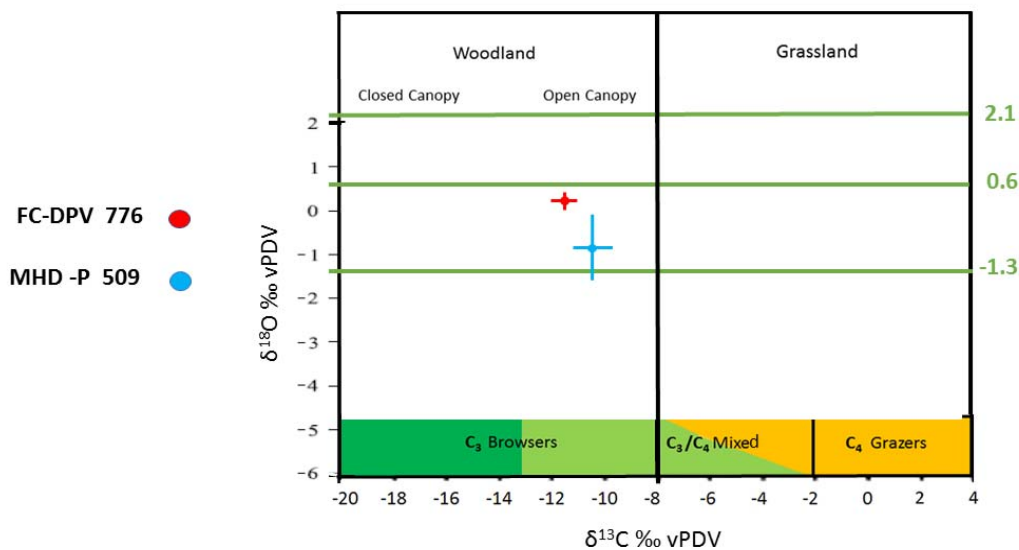
$$C_3 = \delta^{13} C_1 = -13$$

$$C_4 = \delta^{13} C_2 = +1$$

$$f_1 = \frac{-11.7 - (+1)}{-13 - (+1)} = 0.91 \longrightarrow C_3 = 91 \%$$

$$f_2 = 1 - 0.91 = 0.09 \longrightarrow C_4 = 9 \%$$

We obtain that FC-DPV 776 had a diet composed by 91 % of C_3 plants and 9 % of C_4 .



Graphic showing $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ mean and SD (see Table 1) of both *N. recens* specimens.

REFERENCES

- Balasse M. 2003. Potential biases in sampling design and interpretation of intra-tooth isotope analysis. *Int J Osteoarchaeol.* 13(1–2): 3-10.
- Koch PL, Tuross N, Fogel ML. 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxylapatite. *J Archaeol Sci.* 24(5): 417-429.
- Phillips D. 2012. Converting isotopes values to diet composition: the use of mixing models. *J Mamm.* 93(2):342-352.
- Ubilla M. 2004. Mammalian biostratigraphy of Pleistocene fluvial deposits in northern Uruguay, South America. *Proc Geol Assoc.* 115(4): 347-357.
- Ubilla M, Corona A, Rinderknecht A, Perea D, Verde M. 2016. Marine Isotope Stage 3 (MIS 3) and Continental Beds from Northern Uruguay (Sopas Formation): Paleontology, Chronology, and Climate. In GM. Gasparini, J. Rabassa, MC. Deschamps & EP. Tonni (eds.): *Marine Isotope Stage 3 in Southern South*

America, 60 KA BP-30 KA BP. Serie Springer Earth System Sciences. Springer International Publishing: Switzerland. p. 183-205.

CAPÍTULO 10

Resúmenes presentados en reuniones científicas.

- V CUZ. V CONGRESO URUGUAYO DE ZOOLOGIA. Montevideo. 2018.

Resumen

Alimentación y ambientes asociados en caballos del pleistoceno tardío de Uruguay, inferidos mediante estudios de isotopía estable.

Morosi, E. y M. Ubilla.

Libro de Resúmenes V CUZ, página 162.

- 5º International Palaeontological Congress, Paris, Francia. 2018

Resumen

Stable Isotopes Studies in Late Pleistocene Horses from Uruguay.

MOROSI E., Martin UBILLA GUTIÉRREZ.

Proceedings: IPC5 Abstract Book page 1054.

- IX Congreso Latinoamericano de Paleontología, Lima, Perú. 2016

Resumen

Isotopes ($\delta^{13}\text{C}$), Dietary and Environmental Inferences in *Neolicaphrium Recens*, Frenguelli, 1921.

MOROSI E., UBILLA, M.

Proceedings: Libro de Resúmenes IX Congreso Latinoamericano de Paleontología, página 76.

- XXVIII Jornadas Argentinas de Mastozoología, Santa Fe, Argentina. 2015

Resumen

Isotopos estables ($\delta^{13}\text{C}$) en *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama sp*:

Inferencias de Dieta y Ambientes asociados (2015).

MOROSI E., UBILLA, M.

Proceedings: XXVIII Jornadas Argentinas de Mastozoología. SAREM Resúmenes XXVIII-JAM página 95.

- III CZU Tercer Congreso de Zoología del Uruguay, Montevideo. 2014.

Resumen

Paleoecología de Ungulados Fósiles del Cuaternario Continental del Uruguay

(Fm. Sopas), mediante análisis de isotopos estables.

MOROSI E.

Libro de Resúmenes III CUZ, página 62.

- 4º International Palaeontological Congress, Mendoza, Argentina. 2014

Resumen

Preliminary report on isotopic studies ($\delta^{13}\text{C}$) in living and late Pleistocene ungulates of Uruguay: palaeoecological inferences.

MOROSI E., UBILLA, M.

Proceedings: IPC4 Abstract Volume, page 757.



V CONGRESO URUGUAYO DE ZOOLOGÍA

"Dr. Gabriel Skuk Sugliano"

Declarado de Interés Nacional por la Presidencia de la República

9 al 14 de diciembre de 2018

Facultad de Ciencias, UdelAR

Montevideo - Uruguay



Alimentación y ambientes asociados en caballos del pleistoceno tardío de Uruguay, inferidos mediante estudios de isotopía estable ($\delta^{13}\text{C}$)

Morosi, E. & M. Ubilla

Facultad de Ciencias, Igua 4225, Montevideo, 11400, Uruguay.
elimor37@yahoo.com; martinubilla@gmail.com

Presentamos los primeros datos isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$, en caballos pertenecientes al Pleistoceno Tardío del norte de Uruguay (Formación Sopas), con los que se infieren preferencias alimentarias y paleoambientales. Se han obtenido edades de ^{14}C y OSL que abarcan principalmente el intervalo 60-30 kyr BP, correlacionado con el último Interstadial (MIS-3). Los especímenes pertenecen a las colecciones paleontológicas de la Facultad de Ciencias (FC-DPV); Museo Nacional de Historia Natural (MNHN), Montevideo; Museo Histórico Departamental-Paleontología, Artigas (MHD-P) y a la colección Ghizzoni de Salto (C). Se utilizó esmalte dental de fósiles de *Equus neogeus* (n: 17) e *Hippidion principale* (n: 7), recogidos del mismo contexto sedimentario, sugiriendo simpatria. Los análisis isotópicos se realizaron en el Stable Isotopes Laboratory, University of East Anglia (E.M.), siguiendo protocolos previamente establecidos. Para la determinación de la dieta se siguió el modelo de Cerling y Harris: valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -19 y -8‰ corresponden a una dieta C3; de -2 a 2‰ a C4, entre -8 y -2‰ dieta mixta. El promedio $\delta^{13}\text{C}$ para *Hippidion principale* fue de -10,47‰ (-12,81 a -7,50‰), consistente con dietas ramoneadoras C3 en áreas boscosas con dosel abierto. Para *Equus neogeus* se obtuvo un promedio de -7,35‰ (-10,15 a -4,55‰), coincidente con pastadores C3 en áreas boscosas con dosel abierto y de una dieta mixta (con mayor o menor componente C4), pero no asignables a pastadores C4. Estos datos podrían explicar la co-ocurrencia de ambas especies, ya que exhiben estrategias alimenticias diferentes y apoyan la caracterización de esta agrupación de mamíferos como una fauna mixta. Fundamenta la hipótesis de un mosaico de ambientes de bosques riparios, contextos arbóreos semi abiertos y llanuras. Por otra parte los datos sugieren una modificación en la dieta de *E. neogeus*, probablemente relacionadas con cambios ambientales sufridos entre el MIS-3 y el UMG, ya que existiría en ese tiempo y lugar un ecotono con pasturas C3 y C4. Estos resultados se discuten en el marco continental incluyendo información isotópica del Pleistoceno Tardío de Brasil y Argentina.

THE FOSSIL WEEK

ABSTRACT BOOK



5TH INTERNATIONAL
PALAEONTOLOGICAL
CONGRESS



From July 9th to 13th, 2018
France



Stable Isotopes Studies in Late Pleistocene Horses from Uruguay.

Elizabeth Morosi¹ and Martin Ubilla¹

1. Facultad de Ciencias, Iguá 4225, Montevideo, 11400, Uruguay.
elimor37@yahoo.com; martinubilla@gmail.com

The first isotope data of horses belonging to a Late Pleistocene mammalian assemblage of northern Uruguay (Sopas Formation) is provided to document their dietary preferences and paleoenvironmental implications. Radiocarbon and OSL ages of the Sopas Formation encompass mostly the interval 60-30 kyr BP, correlated to the last interstadial (MIS-3). It has been used $\delta^{13}\text{C}$ preserved in fossil tooth enamel of *Equus (Amerhippus) neogeus* (n: 17) and *Hippidion principale* (n: 6), collected from the same sedimentary context, suggesting sympatry. Specimens belong to the Paleontological collections of the Facultad de Ciencias (FC-DPV) and Museo Nacional de Historia Natural (MNHN) of Montevideo, Museo Histórico Departamental-Paleontología of Artigas (MHD-P) and Gizsoni Collection of Salto (C). Pre-treatments and isotopic analyses were performed during an internship at Stable isotopes Laboratory (SIL, University of East Anglia), by one of us, following the protocols previously set. In determining the types of diet, the Feranec-MacFadden model was followed: C_3 diet, $\delta^{13}\text{C}$ values from -19 to -8‰; C_4 diet, $\delta^{13}\text{C}$ from -2 to 2‰, and C_3/C_4 diet (mixed diet), $\delta^{13}\text{C}$ from -8 and -2‰. The $\delta^{13}\text{C}$ average for *Hippidion principale* is -10.47‰ (-12.81 to -9.24 ‰), consistent with animals browsing C_3 plants in open canopy wooded areas. The $\delta^{13}\text{C}$ result of -7.51‰ is not included in the average but was considered in the global study. Meanwhile the $\delta^{13}\text{C}$ average for *Equus (A.) neogeus* is -8.33‰ (-10.15 to -4.55 ‰), these results would reflect a C_3 browser in open canopy wooded areas and a mixed diet (with greater or lesser component of C_4 pasture), but not assignable values to C_4 grasses. It could explain the co-occurrence of both horses that exhibit in some extent different food strategies. The mammalian assemblage of the Sopas Fm. was characterized as a mixed-fauna, including tropical to temperate taxa associated to arid to semiarid species. The hypothesis of a mosaic of environments, including riparian forest, semi open arboreal context and open plains, is substantiated by the inferred type of diet of both species of horses. The results are discussed in the continental framework including information from late Pleistocene Brazil and Argentina samples. The data obtained suggest a modification of feeding strategies in *E. neogeus* probably related to the environmental changes from MIS-3 to last glacial maximum conditions. Contribution to PhD Proj. Pedeciba (E. Morosi).

LIBRO DE RESUMENES



20 - 24 de Setiembre 2016, Lima - Perú

Museo de la Nación

Informes: organizacion@ixcongresopaleo.com - organizacionixcongreso@gmail.com

Inscripciones: www.ixcongresopaleo.com



ISOTOPES ($\delta^{13}\text{C}$), DIETARY AND ENVIRONMENTAL
INFERENCE IN *NEOLICAPHRIUM RECENS*
FRENGUELLI, 1921.

Elizabeth Morosi & Martín Ubilla

Dpto. Paleontología-ICG, Facultad de Ciencias, Udelar, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay
elimor37@yahoo.com; martinubilla@gmail.com

The Proterotheriidae have been recorded from the Upper Paleocene to Late Pleistocene. They are mostly brachyodont, cursorial, small to medium size, showing an early trend toward monodactily. Its biochron shows a high rate of replacement both at the level of genera and species, reason why this family can be considered of great biochronological value during its range. Fluctuations in the taxonomic richness and taxonomic replacement rates are related to climatic-environmental changes happened during the Cenozoic. In addition, there is a greater diversity of Proterotheriidae in environments where there is a relatively balanced relationship between forests and grasslands, sharply declining as environments become more open and arid. In the Pleistocene proterotherids diversity decreased dramatically to a single species, *Neolicaphrium recens* Frenguelli, 1921. It is restricted to center and northwestern Argentina (Cordoba, Corrientes and Santa Fe provinces), northern Uruguay (Artigas, Salto and Tacuarembó departments) and probably southern Brazil (Rio Grande do Sul state). Even though the group has been subject of systematic and anatomical studies, this is the first study using stable isotope as a proxy, in order to obtain dietary habits and environment inferences in *Neolicaphrium recens*. The analyzed samples belong to specimens housed at the Paleontological collection of the Facultad de Ciencias, (FC-DPV), Montevideo and Museo Histórico Departamental de Artigas (MHD-P), Artigas. They pertain to The Sopas Formation (Late Pleistocene of northern Uruguay) associated to OSL ages indicating a correlation with the MIS-3: Specimen MHD-P 509 (Cuareim River, Artigas Department, OSL age $36,100 \pm 6,200$), and specimen FC-DPV 776 (Sopas creek, Salto Department, OSL age $43,500 \pm 3,600$ to $30,600 \pm 5,400$). To infer the kind of diet, the values of $\delta^{13}\text{C}$ were compared with those proposed by MacFadden and Cerling (1996): $\delta^{13}\text{C}$ -20 ‰ to -9 ‰ browser (C_3); -9 ‰ to -2 ‰ mixed diet (C_3/C_4); -2 ‰ to +2 ‰ grazer (C_4). Enamel samples were analyzed with two replicas each, using IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry), a specialization of mass spectrometry that allows measuring the relative abundance of isotopes in a given sample. A Continuous Flow-Isotope Ratio Mass Spectrometer (Isoprime CF-IRMS) interfaced with an elemental analyzer was employed at the SIL facilities (Stable Isotope Laboratories), belonging to the School of Environmental Sciences at University of East Anglia, England. MHD-P 509 samples yielded $\delta^{13}\text{C}$ values between -6.91 ‰ and -9.77 ‰ (mean = -8.50 ‰) corresponding to a mixed diet with high browser content, while in FC-DPV 776 samples, $\delta^{13}\text{C}$ values were between -11.08 ‰ and -11.73 ‰ (mean = -11.33 ‰), indicating a browser diet. We discuss these results with the information based on dental features, microwear studies and in particular, the mesodont condition exhibited by this taxon. The data obtained support an environment of closed to semi-open forests.



LIBRO DE RESUMENES



XXVIII JORNADAS ARGENTINAS DE MASTOZOOLOGIA

UNL

Universidad Nacional del Litoral



Sociedad Argentina para el Estudio
de los Mamíferos



Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$) in *Ozotoceros bezoarticus* and *Mazama* species: diet and associated environments

Isótopos estables ($\delta^{13}\text{C}$) en *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama* sp: inferencias de dieta y ambientes asociados.

Morosi, E., Ubilla, M.

UdelaR, Facultad de Ciencias, Uruguay

elimor37@yahoo.com

Results of stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$), dietary inferences and associated environmental are reported. These are the first isotopic data from Uruguay. An isotopic baseline was created for the $\delta^{13}\text{C}$, allowing to evaluate its potential for trophic predictability in fossil herbivores. Samples of tooth enamel were collected from wild specimens of *Ozotoceros bezoarticus* (29) from northern and southern localities in Uruguay, and in Argentina from Buenos Aires and Corrientes Provinces. In four species of *Mazama* (19): *Mazama gouazoubira* (14), *M. americana* (2), *M. nana* (2) and *M. rufina* (1), from northern and southern localities in Uruguay, and North of Argentina (Misiones, Cordoba, Chaco and Salta). To infer kind of diets, $\delta^{13}\text{C}$ values were compared with those prior proposed for herbivores mammals: $\delta^{13}\text{C}$ of -20 ‰ to -9 ‰, C_3 browsers; -9 ‰ to -2 ‰ mixed diet C_3/C_4 ; -2 ‰ to 2 ‰ C_4 grazers. *Mazama* species from Uruguay indicate a browser diet in forested areas with a $\delta^{13}\text{C}$ between -17.64 ‰ and -13.79 ‰ (mean = -15.06 ‰), regardless the species or geographic location to which they belonged. *Ozotoceros bezoarticus*, related predominately to open environments, has two clearly differentiated populations. The northern Uruguayan deer populations have $\delta^{13}\text{C}$ values between -10.63 ‰ and -6.44 ‰, (mean = -8.38 ‰), corresponding to a mixed diet with higher content of C_4 grasslands. While the southern Uruguayan populations present a $\delta^{13}\text{C}$ between -15.54 ‰ and -9.04 ‰ (mean = -13.39 ‰), with predominance of a browsers diet in C_3 plants. Specimens from Buenos Aires Province have similar values to those observed in the southern Uruguay. Females and young deer have values that are kept within the population to which they belong. But the highest intra-group values are reported to the South of Uruguay, while in the North are recorded the lowest.

* Contribución proyecto doctoral E.M.
Pedeciba-Biología



PALEOECOLOGÍA DE UNGULADOS FÓSILES DEL CUATERNARIO CONTINENTAL DE URUGUAY (FORMACION SOPAS) MEDIANTE ANÁLISIS ISOTÓPICOS.

Elizabeth Morosi. Dpto. Evolución de Cuencas. Facultad de Ciencias. Iguá4225
Mail: elimor37@yahoo.com

El $\delta^{13}\text{C}$ es una técnica que permite medir el fraccionamiento isotópico del carbono, que sucede naturalmente en las plantas, siendo de suma utilidad en la reconstrucción de dietas de distintas especies.

Presentamos los primeros datos isotópicos de ungulados fósiles y vivientes pertenecientes a las familias Equidae, Camelidae y Cervidae, componentes de una fauna atípica de Uruguay (Pleistoceno Tardío, 60.000-30.000 años AP), que incluye taxones alopátridas, los que representan tipos de ambientes disimiles, desde climas áridos y fríos hasta zonas tropicales y templadas, que no se superponen hoy en día y son una contradicción climática.

Los datos preliminares, reflejan una predominancia de dietas ramoneadoras y mixtas, con mayor o menor componente de pasturas C4, que se podría interpretar como una zona de ambientes semiabiertos.

Por otra parte, se ha analizado el $\delta^{13}\text{C}$ en *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama gouazoubira* contemporáneos, permitiendo establecer un patrón de control isotópico y valorar su potencial para la predictibilidad trófica en los fósiles, así también como analizar las implicancias paleobiogeográficas y ecológicas relacionadas con las formas extintas. Los resultados preliminares para *M. gouazoubira* son los esperados (ramoneador de ambientes cerrados), los obtenidos para *O. bezoarticus* no, ya que no refleja contextos dominados por pasturas.

ABSTRACT VOLUME

4th INTERNATIONAL PALAEONTOLOGICAL CONGRESS

The history of life:
A view from the Southern Hemisphere



September 28 - October 3, 2014
MENDOZA, ARGENTINA



**4th INTERNATIONAL
PALAEONTOLOGICAL
CONGRESS**

**THE HISTORY OF LIFE:
A VIEW FROM THE SOUTHERN HEMISPHERE**

ABSTRACT VOLUME

Compiler

Espesana CERDEÑO | TANIOLA, CCT-CONICET Mendoza, Argentina

Graphic design: Remedios MARTÍN | CCT-CONICET Mendoza, Argentina

Text composition: Silvina Laura PEREYRA | CCT-CONICET Mendoza, Argentina

Preliminary report on isotopic studies ($\delta^{13}\text{C}$) in living and Late Pleistocene ungulates of Uruguay: paleoecological inferences*

Elizabeth Morosi¹ and Martin Ubilla¹

1. Faculty of Sciences, Iguá 4225, Montevideo, 11400, Uruguay.
elimor37@yahoo.com

The first $\delta^{13}\text{C}$ isotope data of immigrant ungulates belonging to an atypical fauna of Uruguay (Formación Sopas, Late Pleistocene, 60-30 ky BP) are provided. In addition, $\delta^{13}\text{C}$ isotope data were produced in the living *Ozotoceros bezoarticus* and *Mazama gouazoubira* with the purpose of establishing isotopic control patterns and assess their potential for trophic and environmental predictability. The $\delta^{13}\text{C}$ analyses were made in dental enamel. Fossil specimens belong to the Paleontological collections of the Faculty of Science and National Museum of Natural History (MNHN) of Montevideo; living specimens belong to zoological collections of the Clemente Estable Research Institute-SG and MNHN. GNS Laboratory (New Zealand) facilities were used, following the protocols set for samples collection, pre-treatment and shipment. In determining the types of diet, the Fenerac-MacFadden model was followed: C_3 diet, $\delta^{13}\text{C}$ values from -19 to -9 ‰; C_4 diet, $\delta^{13}\text{C}$ from -2 to 2 ‰, and C_3/C_4 diet (mixed diet), $\delta^{13}\text{C}$ from -9 and -2 ‰. The first $\delta^{13}\text{C}$ base line of extant ungulates from Uruguay was obtained, in which the mean values of $\delta^{13}\text{C}$ for *Mazama gouazoubira* (N=5) was -15.96 (-17.64 to 14.63) ‰, and for *Ozotoceros bezoarticus* (N=5) -12.98 (-14.34 to -6.79) ‰. *M. gouazoubira* is a good predictor of C_3 plants consumer in closed environments (canopy), while *Ozotoceros bezoarticus* reflects a more browser diet than expected, for an open contexts inhabitant at this latitude. The average $\delta^{13}\text{C}$ for fossils deer (N=3) was -8.80 (-10.01 to -7.44) ‰, which indicates mixed diet. The $\delta^{13}\text{C}$ average for the horse *Hippidion* cf. *H. principale* (N=2) was -11.49 (-12.18 to -10.08) ‰, consistent with animals living and browsing in wooded areas. For *Equus* cf. *E. neogeus* (N=2), the $\delta^{13}\text{C}$ average was -8.33 (-8.97 to -7.68) ‰, that indicates mixed diet. Finally, one camelid showed a $\delta^{13}\text{C}$ of -6.81 ‰. It is noteworthy that not C_4 grassers were detected. From late Pleistocene beds of Southern Uruguay (Colonia Department), similar information to those obtained for Sopas Formation was produced (the extinct camelid *Hemiauchenia* presented $\delta^{13}\text{C}$ -9.49 and *Hippidion* cf. *H. principale* $\delta^{13}\text{C}$ -11.14). Although these are preliminary data, the results reflect browser and mixed diet predominance (with greater or lesser component of C_4 pasture), but not assignable values to C_4 grassers, which could be interpreted as preponderance of semi-open environments likely modeled by the MIS3 climatic conditions.* Contribution to PhD Project-Pedeciba-Biología (E. Morosi) and CSIC-Project-C211-348 (M. Ubilla).

CAPÍTULO 11

11– Consideraciones finales y perspectivas.

Nuestros estudios isotópicos, permitieron analizar e inferir estrategias alimenticias y ambientes asociados de varias especies actuales, algunas de ellas poco a nada conocidas, como es el caso de *Mazama nana*.

Con las poblaciones de *Ozotoceros bezoarticus* y *Mazama gouazoubira* contemporáneos de Uruguay, generamos una línea de base isotópica. La que fue validada con los datos isotópicos de la flora existente en las distintas eco-regiones de Uruguay. Tomando en consideración las características transicionales que existen en la vegetación y la existencia de un ecotono de pastizales C₃-C₄, que migra en el invierno hacia el norte.

Con este patrón isotópico de referencia, inferimos estrategias alimenticias y ambientes asociados de varios taxa de la fauna pleistocénica tardía de la Formación Sopas.

Algunos de esos resultados, como los de *Neolicaphrium recens* y *Paraceros fragilis*, son completamente inéditos, ya que la información existente es poca y no se conocía que tipo de estrategias alimenticias podían tener y en qué tipos de ambiente vivían.

Utilizando otros proxies, como son los datos palinológicos del sur de Brasil, Uruguay y Argentina y los registros antárticos de temperatura correspondientes al MIS-3, sumados a nuestros datos isotópicos, planteamos la existencia de un

ecotono de pampas-campos (C₃-C₄), basados en el gradiente isotópico de la dieta de *Morenelaphus sp.*

Observamos que los datos isotópicos de los fósiles, se correspondían mejor con un ecotono que no fuera estático, sino que migrara. En el periodo estudiado del MIS-3 entre los 50 y 30 Ka, durante los interestadiales las condiciones climáticas mejoraban y el ambiente era propicio para que el ecotono retrocediera hacia el sur. Mientras que en los estadiales, este se movía hacia el norte, debido al desplazamiento de las incursiones del frente polar frío y húmedo, más frecuentes e intensas. Estos cambios climáticos, tenían como consecuencia que la composición C₃-C₄ del pastizal en el norte de Uruguay variara.

Durante el estadal, hay una mayor oferta y por lo tanto una tendencia hacia un mayor consumo de pastos C₃ y esto es apreciable en la composición isotópica de la dieta de los caballos.

Equus neogeus (pastador C₃-C₄ en ambientes abiertos de pradera) e *Hippidion principale* (pastador ramoneador en zonas arboladas sin dosel), incrementaron en promedio, la asimilación de C₃ en un 12 y un 13 % respectivamente.

La utilización de varios proxis en conjunto, ayudan a una mejor interpretación de los resultados isotópicos, relacionando el comportamiento alimenticio con los patrones de vegetación y el cambio climático a escala de pocos milenios.

Por último, algo que aprendimos en este largo camino, es que en aquellas investigaciones que involucren datos isotópicos, sería conveniente que estos fueran corregidos por efecto Suess, tanto en ejemplares fósiles como actuales y se

evaluara el estadio ontogenético de los individuos, ya que ambos factores pueden llevar a inferencias erróneas.

¿Que falta por hacer?

¡Aún queda mucho por hacer! Del set de muestras, que analizamos en nuestras pasantías en los laboratorios de isotopía estable, solo hemos utilizado una fracción. Aun nos resta estudiar los datos de ejemplares fósiles de:

- los camélidos de la Formación Sopas, entre los que se encuentran *Hemiauchenia*, *Lama guanicoe* y *Lama vicugna*.
- équidos, cérvidos y camélidos de la Formación Dolores.
- análisis de especímenes de *Macrauchenia*
- datos isotópicos en la fracción orgánica (colágeno) de huesos y dentina que pertenecen a distintos taxa y formaciones y analizar su correspondencia o congruencia

En un ámbito geoquímico, consideramos importante realizar comparaciones, que se puedan utilizar como patrones, en futuros trabajos isotópicos en fósiles pleistocénicos de las formaciones de Uruguay, o con fósiles que tengan características similares, como ser:

- La comparación de resultados isotópicos de diferentes fracciones (carbonatos y colágeno), pertenecientes a los mismos ejemplares (tomando

en consideración el enriquecimiento entre ambos) y evaluar que método es más conveniente

- Comparación entre los datos de colágeno, carbonatos biogénicos y sedimentarios del entorno donde fue colectado el fósil.
- Contamos con resultados de diferentes tejidos (esmalte, dentina, hueso, astas), pertenecientes a los mismos ejemplares, que fueron analizados en tres laboratorios diferentes y a su vez con técnicas diferentes. ¿Son esos resultados similares? o ¿dependiendo del laboratorio y la técnica isotópica IRMS utilizada (flujo continuo, dual inlet manual o automático), se obtienen resultados diferentes?
- ¿Cuán importante son el muestreo o los pretratamientos? ¿influyen o no, en la inferencia de los resultados?

Las respuestas a estas preguntas y otras similares, permitirían enfocarnos en las técnicas más adecuadas al tejido actual o fósil en estudio.

FINANCIACIÓN.

Esta tesis ha sido financiada por : Beca CSIC [Proyecto 260-348, 2014] (E.M.); ANII y Consejo Británico a través de la Embajada Británica en Uruguay, 2015 (E.M.); PEDECIBA (Beca para pasantía 2016, (E.M.)); ANII NAC-DOC beca [2016-1-130352], (E.M.); CAP beca 2020 (E.M.); CSIC [Project C-211-348] (M.U.)