



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**Jerarquía social, comportamiento agresivo y
características morfológicas y reproductivas en cérvidos**

Matías Villagrán

TESIS DE DOCTORADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

URUGUAY

2019



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**Jerarquía social, comportamiento agresivo y
características morfológicas y reproductivas en cérvidos**

Matías Villagrán

Rodolfo Ungerfeld, Ph.D.

Director de Tesis

Ludek Bartoš, Ph.D.

Co-Director de Tesis

Integrantes del Tribunal de Defensa de Tesis

Daniella Agrati Giadans; Lic. Biol., M.Sc., Ph.D.

Sección Fisiología y Nutrición, Facultad de Ciencias, Universidad de la República,
Uruguay.

Selene Siqueira da Cunha Nogueira; Lic. Biol., M.Sc., Ph.D.

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz,
Bahía, Brasil.

Oscar Blumetto Velazco; Ing. Agr., Ph.D.

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, INIA Las Brujas, Uruguay.

Acta de Defensa de Tesis



ACTA DE EXAMEN

CURSO: Defensa de Tesis de Doctorado

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: Montevideo, 3 de octubre de 2019

TRIBUNAL: Dra. Daniella Agrati (Presidente), Dra. Selene Nogueira, Dr. Oscar Blumetto

CI ESTUDIANTE	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
3.997.724-8	VILLAGRÁN, Matías	APROBADO EN MENCIÓN	12

PRESENTADOS	NO PRESENTADOS	APROBADOS	APLAZADOS	INSCRIPTOS
1	0	1	0	1

TRIBUNAL

Dra. Daniella Agrati (Presidente)

Dra. Selene Nogueira

Dr. Oscar Blumetto

FIRMA

NOTA: Las calificaciones de aprobación de la Defensa de Tesis pueden ser:
B.B.B.-6 o S.S.S.-12

*A Leti y Fede;
los amores de mi vida*

Agradecimientos

A Rodolfo Ungerfeld; Orientador de esta Tesis, pero también de mi Tesis de Grado y Tesis de Maestría. Por eso, los agradecimientos son aún más profundos y de larga data. Por su gran compromiso, responsabilidad, y rigor científico. Por la confianza para desarrollar los trabajos, y el apoyo cuando las cosas no salían como esperaba. Por su estímulo para continuar formándome, conocer investigadores y realizar pasantías. Por dirigir científicamente el proyecto “Biología reproductiva del venado de campo”, en el que se enmarcaron la mayoría de los trabajos de mis Tesis, y que cuentan gran parte de lo que soy como profesional.

To Luděk Bartoš; Co-supervisor of this Thesis. For accept, almost immediately, to be part of this process. For generously share his scientific vision, always constructive, gentle, and open to other opinions. For his great help with data analysis. For inviting me to visit the Department of Ethology, and to participate in several studies and scientific discussions. I especially thank him for show me "his Prague", and even more, for open his family and his house to me.

A la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, quien me recibió como estudiante, me permitió formarme, y de la que hoy soy parte como Docente.

A todos los que participaron en los trabajos experimentales; ya que sin ellos, nada de esto habría sido posible. A Solana González, Jorge Gil, Adrián Sestelo, Rodolfo Ungerfeld, Alejandro Bielli, Aline Freitas-de-Melo, Juan Pablo Damián, Danilo Fila, Miguel Coloma, Marcela Canabal, Claudia Ambrosi, Natalie Citon, César Savignone, Lucía Delbene, Pedro Dos Santos-Netto, Belem De Luna, Alejandra Sánchez-Cervantes, Lorenzo Álvarez, Flávia Franchini y Patricia Espinosa. Especialmente a Fernando Fumagalli y Florencia Beracochea; por “ponerse al hombro”, con mucho corazón, destreza técnica y responsabilidad, dos puntos clave de los trabajos (el manejo anestésico de los animales, y el procesamiento y evaluación del semen). A “mis” tesistas, Lorena Baptista y Soledad Pérez-Long; por su gran compromiso, responsabilidad y aportes realizados al trabajo. A Lucía Aniano, Aline Freitas-de-Melo, y Tatiana Morales-Piñeyrúa; por compartir los datos colectados de comportamiento de hembras de venado. A Edgardo Barrios, Ricardo Sorelo y Jhonny Briosso, de la ECFA; por su ayuda en el manejo de los animales.

To Rodolfo Ungerfeld, Luděk Bartoš, Florencia Beracochea, Aline Freitas-de-Melo and Lorenzo Álvarez; for their commitment and contributions to the experimental works and to the writing of the papers of this Thesis.

To all members of the Department of Ethology; for making me feel part of the team since my first day in Prague. To Bruno Esattore and Adam Dušek; for allowed me to participate in their experiments. To Radka Sárová, Barbora Fričová, Radim Kotrba, Adam Dušek, Martina Komárková and Francisco “Paco” Ceacero; for their kindness and for many good times together. I especially thank to Bruno Esattore; for his invaluable help, his "guided tours" around the city, and especially for his friendship!

A todos los me ayudaron y acompañaron durante mi pasantía en México; a quienes les estaré eternamente agradecido. A Pablo Jara, Ana Celia Hinojo, Ana Villegas, Mario “Chifrijo” Hidalgo, Samantha Llanos, Gregorio Miranda, y “Patty” García, con quienes conviví en el CEIEPAA. Especialmente a Alejandra Sánchez-Cervantes y Belem de Luna; por su inmensa generosidad y hospitalidad.

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC; Universidad de la República, Uruguay) y la Intendencia Departamental de Maldonado por financiar los trabajos realizados con venado de campo. A CSIC por financiar las pasantías realizadas en el exterior del país, y la asistencia al Congreso Mundial de la International Society for Applied Ethology, realizado en Dinamarca, donde presenté parte de los resultados de la Tesis. A la Comisión Académica de Posgrado (UdelaR) por otorgarme una beca para realizar esta Tesis.

A Fede, mi hija; por sus sonrisas. Por ser una fuente de motivación y aprendizaje constante. Por alegrarme cada día, y por ser tanto en mí.

A Leti; por su amor. Por su cuidado delicado, constante e incondicional. Por sus consejos. Por estar y creer siempre en mí, y por compartir lo máspreciado, a Fede.

A mis viejos, Carlos y Arlette; por su amor, enseñanzas, confianza y apoyo; desde siempre, como padres y hoy también como abuelos.

A Lu y Manu, Nacho y Alicia, Marita, Nybia, José y Cris, Mauri y Flo, Facu y Jime; por su enorme cariño.

A mis hermanos de la vida, Juan, “Santo”, “Pela”, y “Sinta”; por la inmensa amistad que compartimos.

A mis amigos Kachimberos; por su amistad, y los inmejorables momentos vividos.

A mis compañeros y amigos de Facultad, Solana González, Florencia Beracochea, Juan Pablo Damián, Carolina Fiol, Fernando Fumagalli, María Noel Viera y Vanessa Lujambio; por su cariño, y sus consejos. Por compartir este

proceso, y otros trabajos y proyectos conjuntos. Especialmente a María Noel Viera por la revisión final del manuscrito de la Tesis.

A todos ustedes, ¡muchas gracias!

Índice de contenidos

1. Introducción y antecedentes.....	1
1.1 Jerarquía social.....	1
1.2 Jerarquía y comportamiento agresivo.....	2
1.3 Jerarquía, tamaño corporal y características reproductivas.....	4
1.4 Especies estudiadas en esta Tesis.....	7
2. Hipótesis.....	11
3. Objetivos.....	12
4. Estrategia de investigación.....	13
5. Experimentos.....	14
5.1 Experimento I (Publicación I).....	14
5.2 Experimento II (Publicación II).....	19
5.3 Experimento III (Publicación III).....	24
6. Discusión general.....	27
7. Conclusiones generales.....	33
8. Referencias bibliográficas.....	34
9. Anexos.....	56

Índice de Tablas

Tabla 1. Significancia de la pendiente (valores de t y p respectivamente) caracterizando la relación entre la concentración de testosterona, las características somáticas, del semen, y de las astas, y la posición en la jerarquía (como índice de éxito, IE) en cinco grupos de machos de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) mantenidos en condiciones de semi-cautiverio.....	23
Tabla 2. Desempeño reproductivo (media \pm EEM) de hembras de ciervo rojo (<i>Cervus elaphus</i>) de alto, medio y bajo rango jerárquico luego de un tratamiento hormonal de sincronización de celos.....	26

Índice de Figuras

Figura 1. Relación entre la posición en la jerarquía (IE) y la frecuencia del total de interacciones agresivas iniciadas por hembras dominantes de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) hacia individuos subordinados mantenidos en 13 grupos de cría (Total= 65 hembras).....	17
Figura 2. Frecuencia del total de interacciones agresivas realizadas por hembras dominantes de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) hacia hembras subordinadas cuando el macho estaba presente y luego de retirarlo del encierro (períodos “con macho” y “sin macho” respectivamente). Datos colectados en 6 grupos de cría (Total= 31 hembras).....	18
Figura 3. Relación entre la posición en la jerarquía (IE) y el porcentaje de cambio en la frecuencia de interacciones agresivas realizadas por hembras dominantes hacia otras subordinadas luego de remover al macho del encierro. Datos colectados en hembras de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) mantenidas en 6 grupos de cría (Total= 31 hembras).....	18
Figura 4. Concentración de testosterona y posición en la jerarquía en cuatro grupos de machos de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>).....	21
Figura 5. <i>Tamaño de astas</i> en machos de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) de acuerdo a la posición en la jerarquía (Total= 12 machos).....	21
Figura 6. <i>Vitalidad del semen</i> de acuerdo a la posición en la jerarquía en cuatro grupos de machos de venado de campo (<i>Ozotoceros bezoarticus</i>) mantenidos en condiciones de semi-cautiverio. (Total= 17 machos).....	22

Resumen

Los objetivos de esta Tesis de Doctorado fueron determinar si la posición jerárquica individual (índice de éxito; IE) se vincula con 1) la frecuencia de interacciones agresivas entre hembras de venado de campo, y si esta varía según la presencia o no del macho (Experimento I); 2) el peso, la concentración de testosterona, el tamaño corporal, testicular y de las astas, y las características seminales de machos de venado de campo (Experimento II) y 3) la respuesta reproductiva a un tratamiento de sincronización de celo en hembras de ciervo rojo (Experimento III). En el Exp. I la frecuencia de cada tipo de interacción agresiva entre hembras alojadas en 19 grupos de cría (total= 99 hembras), y el total de interacciones agresivas se relacionaron positivamente. La frecuencia del total de interacciones agresivas aumentó luego de remover al macho, y el porcentaje de ese cambio estuvo positivamente relacionado al IE. En el Exp. II el *tamaño de astas* se relacionó positivamente con el IE de los machos (total= 18 machos en cinco grupos de sólo machos). La concentración de testosterona se relacionó positivamente con el IE en tres de cuatro grupos. La *vitalidad del semen* se relacionó negativamente con el IE en tres grupos, y positivamente en otro grupo. En el Exp. III se utilizaron 49 hembras, alojadas en dos grupos de sólo hembras. No se registraron diferencias en el porcentaje de hembras que manifestaron celo, tiempo al celo, duración de la gestación, tasa de preñez y tasa de concepción, y porcentaje de crías macho de acuerdo al rango social de las hembras. Se concluyó que la frecuencia de agresiones entre hembras de venado de campo aumentó con la posición en la jerarquía y luego de remover el macho del encierro, especialmente en aquellas hembras de mayor jerarquía. Además, el IE se relacionó positivamente con el *tamaño de astas* y, en la mayoría de los grupos, la concentración de testosterona aumentó y la *vitalidad del semen* disminuyó con la posición en la jerarquía. Finalmente, el rango social de hembras de ciervo rojo con acceso a alimentación *ad libitum* de alta calidad, con celo sincronizado no afectó el desempeño reproductivo y el sexo de la cría.

Summary

The aims of this Doctoral Thesis were to determine if the individual position within the hierarchy (hierarchy index; HI) is related to 1) the frequency of aggressive interactions among pampas deer females, and if it varies when the male is present or not (Experiment I); 2) body weight, testosterone concentration, body size, testicle size and antler size, semen traits in pampas deer males (Experiment II); and 3) the reproductive response to an estrous synchronization treatment in red deer females (Experiment III). In Exp. I the frequency of different types of aggressive interactions among females allocated in 19 breeding groups (total= 99 females), and the total of aggressive interactions were positively related. The frequency of total aggressive interactions increased after male removal, and the percentage of that change was positively related to HI. In Exp. II, *antler size* was positively related to males' HI (total= 18 males allocated in five only male groups). Testosterone concentrations was positively correlated to HI in three out of four groups. *Semen vitality* was negatively related to HI in three groups, and positively related in another group. In Exp III, 49 females were allocated in two groups. No differences were observed between social ranks in the percentage of females that came into estrus, resulted pregnant, and gave birth a male calf. It was concluded that the frequency of aggressive interactions increases within the hierarchy. Aggression also increases after short-term removal of the male, mainly among females of higher social status. In male pampas deer, *antler size* increased with the HI and, in most groups, testosterone concentration increased and *semen vitality* decreased as the position within the hierarchy increased. Finally, social rank did not affect the reproductive performance and offspring sex ratio in red deer females with *ad libitum* access to high-quality food.

1. Introducción y antecedentes

1.1 Jerarquía social

La jerarquía social se define como el orden de los individuos dentro de un grupo, resultante de las relaciones de dominancia y subordinación entre cada una de las díadas (Hurnik et al., 1995). El establecimiento de jerarquías sociales es una parte integral del comportamiento animal presente en numerosas especies, la que en muchas poblaciones animales ocurre naturalmente. Según Pusey y Packer (1997) una jerarquía estable beneficia tanto a los individuos dominantes como a los subordinados, minimizando la incidencia de interacciones agresivas. Esto permite una mejor utilización de los recursos, con un mínimo de conflictos destructivos, permitiendo así el éxito en la coexistencia (Barroso et al., 2000). También asegura que por lo menos algunos individuos dominantes reciban cantidades adecuadas de comida, aún durante períodos de severa escasez de alimento (Hurnik et al., 1995).

En general se asume que los machos adultos dominan a las hembras adultas, teniendo a su vez los animales adultos mayor posición jerárquica que los animales jóvenes (Hurnik et al., 1995; Dušek et al., 2007). El ascenso en la jerarquía social de estos últimos individuos depende del estatus social de su madre, del aumento de la edad y su habilidad individual para aumentar la posición jerárquica dentro del grupo (Santiago-Moreno et al., 2007; Dušek et al., 2007; Šárová et al., 2013). Aunque esta temática fue estudiada mayormente en machos (*e.g.* Jennings et al., 2010; Fričová et al., 2007; Bartoš et al., 2010), en muchas especies de rumiantes también existe una clara jerarquía social entre las hembras [bovinos (Plusquellec y Bouissou, 2001; Šárová et al., 2013; Ungerfeld et al., 2014), ovinos (Zine y Krausman, 2000; Favre et al., 2008), caprinos (Álvarez et al., 2010; Santiago-Moreno et al., 2007), camélidos (Prud'Hon et al., 1993; Correa et al., 2013); cérvidos (Dušek et al., 2007; Landete-Castillejos et al., 2010; Ceacero et al., 2012)].

La jerarquía social implica que los individuos de mayor posición jerárquica posean acceso preferencial a diferentes recursos, como los alimentos (ciervos: Ceacero et al., 2012; cabras: Matsuzawa y Hagiya, 1991; bovinos: Ingrand, 2000), el agua (bovinos: Araujo et al., 2012), la sombra (ovejas: Sherwin y Johnson, 1987), y la pareja sexual (ovinos: Zine y Krausman, 2000; ciervos: Endo et al., 1997; Hirotani, 1994). El acceso desigual a recursos tiene mayores consecuencias cuando los recursos son escasos que cuando son abundantes (Hurnik *et al.*, 1995). Por ejemplo, la diferencia en el acceso a alimento entre individuos de alto y bajo rango social es mayor cuando el alimento es insuficiente [ciervo rojo (*Cervus elaphus*): Appleby, 1980; Thouless, 1990] que cuando es abundante [ciervo cola-blanca (*Odocoileus virginianus*): Ozaga, 1972; Taillon y Côté, 2007; ver revisión Stockley y Bro-Jørgensen, 2011]. Por lo tanto, en especies pastoreadoras la disponibilidad de forraje es un modulador principal de las diferencias entre animales de distinta posición jerárquica. Sin embargo, si el alimento es ofrecido *ad libitum* pero en un espacio reducido, la competencia por este recurso aumenta (Ceacero et al., 2012), y los animales de posición jerárquica más alta pueden igualmente tener acceso preferencial al mismo (Jørgensen et al., 2007).

1.2 Jerarquía y comportamiento agresivo

En forma general, se establece que el uso del comportamiento agresivo se vincula a la posición individual en la jerarquía. Como ejemplo, en muchas especies de ciervo, la frecuencia de agresiones entre machos asociadas a establecer y mantener relaciones de dominancia, se relaciona positivamente con su posición en la jerarquía [ciervo rojo: Bartoš 1986, ciervo dama (*Dama dama*): Komers et al., 1997; McElligott et al., 1998]. Sin embargo, otros estudios reportan que sólo algunas unidades agresivas utilizadas para dominar se relacionaron con el rango de los machos [ciervo dama: Jennings et al., 2010; ciervo almizclero (*Moschus sifanicus*): Meng et al., 2012]. Hasta donde conocemos, no existe información similar que relacione el comportamiento agresivo y el rango social en hembra de ciervo. Sin embargo, se reportó una relación positiva entre ambas

características en otros rumiantes [cabra doméstica: Barroso et al., 2000; cabra de montaña (*Oreamnos americanus*): Côté, 2000; Tölü y Savaş, 2007]. En hembras de búfalo común (*Alcelaphus buselaphus*) esta relación positiva fue detectada únicamente en el número total de interacciones agresivas, pero no en aquellas interacciones de mayor intensidad de agresión (Spratt et al., 2018). Mientras tanto, no se encontró ninguna relación entre la frecuencia de interacciones agresivas desplegadas y la posición en la jerarquía en hembras de íbice de Nubia (*Capra ibex nubiana*; Greenberg-Cohen et al., 1994). Por lo tanto, dicha relación no estaría completamente dilucidada, para lo que sería necesario realizar otros estudios.

Los cambios en la composición de los grupos provocan inestabilidad social (ver revisión Estévez et al., 2007), y usualmente resultan en un aumento en la frecuencia de agresiones entre sus miembros (cabras: ver revisión Miranda-de la Lama y Mattiello, 2010; Patt et al., 2012; vacas: Kondo y Hurnik, 1990; Schirmann et al., 2011). Así, la frecuencia de agresiones aumentó luego de remover al macho de mayor jerarquía en un lek de ciervo dama, posiblemente debido a un intento de los otros individuos de ascender en su posición en la jerarquía (Apollonio et al., 1989). Por otra parte, fue reportado que los conflictos dentro del grupo son reducidos mediante la intervención punitiva realizada por terceros individuos (ver también “rol de control”, revisado por Raihani et al., 2012 y Singh y Boomsma, 2015), lo que favorecería la estabilidad social (Flack et al., 2005a). Este rol es ejercido principalmente por individuos de alto estatus jerárquico (Clutton-Brock y Parker, 1995; Beisner y McCowan, 2013), como ocurre en grupos de machos de ciervo dama (Jennings et al., 2009; 2017; 2018). En este sentido, la intervención de los machos de mayor posición en la jerarquía reduce el número de agresiones entre hembras en caballos (Granquist et al., 2012) y primates (von Rohr et al., 2012; Beisner y McCowan, 2013; Pallante et al., 2016). En grupos de cría, los machos de venado de campo dominan a las hembras (Freitas-de-Melo et al., 2013), utilizando comportamientos energéticamente más costosos hacia hembras de alto rango que de bajo rango social (Ungerfeld y Freitas-de-Melo,

2014). Sin embargo, aún se desconoce cómo el retiro del macho del grupo social afecta el comportamiento agresivo entre las hembras, y si esto varía con el rango social de las hembras.

1.3 Jerarquía, tamaño corporal y características reproductivas

Como fue mencionado anteriormente, la jerarquía social resulta en acceso preferencial a los recursos por parte de los animales de alta posición jerárquica, lo que puede derivar en el desarrollo de características reproductivas más ventajosas para la reproducción. Así, en general los individuos de mayor estatus jerárquico poseen mayor éxito reproductivo que aquellos de menor jerarquía (machos: Hirotsani, 1994; McElligott et al., 2001; Chunwang et al., 2004; hembras: Clutton-Brock et al., 1986; Cassinello y Gomendio, 1996; Côté y Festa Bianchet, 2001).

En machos, la posición jerárquica está altamente relacionada con las características morfológicas y reproductivas, afectando el éxito reproductivo de los individuos. Los machos de alta posición jerárquica poseen mayores concentraciones de testosterona que los individuos de menor jerarquía en varias especies de ciervos [pudu (*Pudu pudu*): Bartoš et al., 1998; ciervo del padre David (*Elaphurus davidianus*): Chungwang et al., 2004; ciervo rojo: Bartoš et al., 2010]. Existen concentraciones mínimas de testosterona para que la espermatogénesis ocurra normalmente (O'Donnell et al., 2006). Al menos en carneros domésticos, los individuos de mayor posición en la jerarquía social poseen testículos de mayor tamaño, y producen mayor volumen y mayor concentración de semen que los machos de menor jerarquía (Aguirre et al., 2007). Estos factores en conjunto explicarían en parte el mayor éxito reproductivo de los machos de mayor estatus jerárquico en comparación con aquellos de menor rango (ciervo rojo: Clutton-Brock et al., 1982, ciervo dama: McElligott et al., 2001; Preston et al., 2003). Contrariamente con esto, es esperable que los machos que deban competir más energicamente por acceder a las hembras invertirían más en la calidad del semen

que aquellos que ya tienen acceso preferencial a las hembras (ver revisiones Parker, 1998; Vahed y Parker 2012).

En muchas especies de ciervos, los machos de posición jerárquica alta poseen mayor tamaño y peso corporal que aquellos de menor estatus jerárquico (ciervo cola blanca: Townsend y Bailey, 1981; ciervo dama: McElligott et al., 2001). Además, en ciervos, el tamaño de las astas se relaciona con la posición jerárquica que ocupaban los machos durante la época de crecimiento de las mismas (Bartoš, 1990; Bartoš y Losos, 1997). Las astas de machos de ciervo rojo de posición jerárquica más alta caen y crecen antes que las de individuos de menor rango jerárquico, sugiriendo que los primeros tendrían un aumento más temprano, mayor frecuencia de pulsos y mayor concentración global de testosterona (ver revisión Bartoš y Bubenik, 2011; Bartoš et al., 2012). Además, el tamaño y la complejidad de las astas se relaciona positivamente con mayor concentración de testosterona, mayor volumen testicular y mejores características seminales (Malo et al., 2005; 2009).

En hembras de rumiantes, como en los machos, se reportó una relación positiva entre la posición en la jerarquía, y las características reproductivas y el éxito reproductivo. Cabras de montaña de mayor rango social producen más cabritos a lo largo de su vida reproductiva que las de bajo rango (Côté y Festa-Bianchet, 2001). Además, cabras domésticas de alto rango estimuladas a ovular con el efecto macho mantienen mayor proximidad física, y ovulan y paren antes que aquellas de bajo rango (Álvarez et al., 2003; 2007).

La ocurrencia de partos más tempranos en la estación reproductiva aumentaría la probabilidad de supervivencia de las crías. En condiciones de vida libre, las hembras de ciervo rojo de alta posición jerárquica paren antes que las de baja posición jerárquica (Clutton-Brock et al., 1986). Esto puede asociarse a una concepción más temprana, y a diferencias en la duración de la gestación, ya que en varias especies de rumiantes se reportó una relación negativa entre el momento de la concepción y la duración de la gestación (ver revisiones Asher 2007; Shipka y Rowell, 2011). Por lo tanto, la condición corporal, la que está

relacionada con la diferencia en el acceso al alimento por la posición jerárquica de los individuos, podría implicar diferencias en la duración de la gestación en rumiantes silvestres (Clements et al., 2011).

En algunos mamíferos también existe una relación entre el estatus jerárquico y la proporción de sexos de sus crías. La teoría desarrollada por Trivers y Willard (1973) predice que las hembras en mejor condición producirán una mayor proporción de crías macho, y aquellas en peor condición parirán más crías hembra, aumentando así la probabilidad de dejar descendencia (Altmann y Altmann, 1991). Esta teoría ha sido verificada en varias especies utilizadas con fines productivos como el cerdo (Meikle et al., 1993), la vaca lechera (Roche et al., 2006), el ciervo rojo (Clutton-Brock et al., 1984; 1986) y el zorro (Bakken, 1995). Sin embargo, en reno (*Rangifer tarandus*), ciervo mula (*Odocoileus hemionus*), y ciervo cola blanca, la información no es concluyente (ver revisión Kojola 1997), y en venado de campo en cautiverio este fenómeno no fue observado (Morales-Piñeyrúa et al., 2014). Este se vincula con los mayores costos energéticos de criar un macho que una hembra y con la mayor capacidad de invertir en la prole de los animales de mayor estatus jerárquico (Gomendio et al., 1990; Landete-Castillejos et al., 2005). Por el contrario, la teoría de “competencia local por recursos” (Silk, 1983) predice que las hembras en menor condición corporal producirán más crías macho, ya que estos migran antes y por tanto compiten menos por el alimento con sus madres. En resumen, ambas teorías predicen una proporción de sexos de las crías diferente según la disponibilidad de recursos. Sin embargo, en algunos casos la información no es concluyente, e incluso es a veces contradictoria, lo que puede vincularse con las condiciones en que se realizan los trabajos (e.g. vida libre vs. cautiverio). Así, aunque cabras salvajes de alta posición jerárquica poseen mayor éxito reproductivo que individuos de menor jerarquía (Côté y Festa-Bianchet, 2001), en cabras domésticas la tasa de concepción y el tamaño de camada fue similar según la posición jerárquica (Ungerfeld et al., 2007). Por su parte, hembras de venado de campo en cautiverio no presentan diferencias en el éxito al parto, fecha de parto, y sexo y peso de la cría según el

rango social (Morales-Piñeyrúa et al., 2014). Sin embargo, se desconoce completamente cómo dicho rango se vincula con la reproducción de los machos en estas condiciones. Por otra parte, en ciervo rojo existe una relación positiva entre el rango social de la hembra, el de su cría y el peso de ésta última (Veiberg et al., 2004; Dušek et al., 2007). Además, Clutton-Brock et al. (1986) determinaron que las hembras de alto rango paren antes que las de bajo rango social, lo que podría favorecer la supervivencia de las crías. En resumen, la relación entre la posición en la jerarquía, y el desempeño reproductivo y varias características reproductivas de rumiantes varía entre las especies, y no estaría completamente dilucidada.

1.4 Especies estudiadas en esta Tesis

1.4.1 Venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*)

El venado de campo, *Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758), es un cérvido que ocupaba la mayor parte de las praderas del este de Sudamérica, entre los 5° y los 41° S (Jackson y Langguth, 1987). Sin embargo, desde 1975 está incluido en el Apéndice I de CITES (Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies de Flora y Fauna silvestre Amenazada) (CITES, 2019), lo que significa que está amenazado de extinción y su comercialización sólo está permitida excepcionalmente. Además, es considerado por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de Recursos Naturales) como “casi amenazado” (González et al., 2016). A nivel local, la especie integra las listas “mamíferos amenazados” y “mamíferos prioritarios para la conservación” del Sistema Nacional de Áreas Protegidas (SNAP) (Soutullo y col., 2013). Actualmente se considera que existen poblaciones silvestres en Argentina, Bolivia, Paraguay, Brasil y Uruguay (González et al., 2016). Sin embargo, estos autores destacan la escasa información actualizada disponible. En Uruguay existen dos poblaciones silvestres que corresponden a dos subespecies endémicas: *O. bezoarticus arerunguaensis*, habita en la zona de Arerunguá, Salto, y *O. bezoarticus uruguayensis* se encuentra en la

Sierra de Ajos, departamento de Rocha (Weber y González 2003). Además, existe una tercera población de venado de campo, alojada en semi-cautiverio en la Estación de Cría de Fauna Autóctona del Cerro Pan de Azúcar (ECFA), ubicada en el departamento de Maldonado, Uruguay (34° 5' S, 55° 1' O; altitud: ~ 200 m).

El venado de campo es un cérvido de tamaño medio y posee un dimorfismo sexual menos marcado que en otras especies de cérvidos (Putman y Flueck, 2011). En la ECFA los machos pesan 30–35 kg, miden 90–100 cm de largo, y 65–70 cm de altura hasta la cruz (Ungerfeld y col., 2008a). Los machos poseen astas, que en los adultos tienen 3 puntas y un largo de ~30 cm (Ungerfeld y col., 2008b). Las hembras son de menor tamaño, y no tiene astas (Ungerfeld y col., 2008a).

Los animales de la población de la ECFA presentan una estacionalidad reproductiva moderada, con un pico de partos en primavera, aunque algunos partos son observados el resto del año (Ungerfeld et al., 2008a; Ungerfeld, 2015). Los machos poseen mayor desarrollo de sus características morfológicas (*e.g.* peso, tamaño testicular) y reproductivas (*e.g.* testosterona y características del semen) en verano y otoño (Ungerfeld et al., 2019). Las astas poseen un ciclo estacional de crecimiento (Ungerfeld 2008c): las astas caen en agosto, las nuevas astas crecen recubiertas de una felpa que cae en noviembre, y luego de ello las astas permanecen “duras” el resto del año. El comportamiento de marcación y agresivo de los machos también varían en forma estacional, siendo ambos observados mayormente durante el verano y otoño (Delbene y Ungerfeld, 2019).

La organización social en las poblaciones en vida libre de Uruguay y Argentina consiste de grupos fundamentalmente mixtos, integrados en promedio por 7 individuos, aunque también se observan machos y hembras solitarios (Cosse y González, 2013; Semeñiuk y Merino, 2015). Según estos autores, existe “discreta” agregación sexual en otoño y segregación en primavera. Como ya fue anteriormente mencionado, en los grupos de cría de la ECFA, los machos dominan a las hembras (Freitas-de-Melo et al., 2013), utilizando

comportamientos energéticamente más costosos hacia hembras de alto rango que de bajo rango social (Ungerfeld y Freitas-de-Melo, 2014).

1.4.2 Ciervo rojo (*Cervus elaphus*)

El ciervo rojo, *Cervus elaphus*, es una especie originalmente distribuida en Norteamérica, Europa y el oeste de Asia, aunque, actualmente se encuentra ampliamente distribuida en el mundo. El estado de conservación de la especie es de “preocupación menor”, y el tamaño de la población mundial tiende a aumentar (Lovari et al., 2018). Se utiliza con fines productivos y cinegéticos en varios países. Fue introducido a Australia, Nueva Zelanda y Sudamérica, incluido Uruguay para ser utilizado con estos mismos propósitos (Lowe et al., 2004; Flueck, 2010). Se considera al ciervo rojo una de las 100 especies exóticas que globalmente genera mayores daños (GISD, 2015). En Sudamérica, la especie está ampliamente distribuida tanto en condiciones de vida libre como en cautiverio, teniendo importantes efectos negativos sobre la biodiversidad (ver revisión Flueck, 2010).

La especie presenta un dimorfismo sexual marcado. Los machos pesan 150-250 kg y poseen astas de 50-90 cm (Geist, 1998; Appleby, 1982). Por su parte, las hembras pesan 80-120 kg y no poseen astas (Geist, 1998). La reproducción es de tipo estacional, concentrándose en el verano tardío y otoño (Lincoln, 1992). Los machos presentan marcados cambios morfológicos, endócrinos y reproductivos asociados a la estación reproductiva, incluyendo un aumento en el peso, el perímetro del cuello, el tamaño y funcionalidad testicular, el tamaño de las glándulas accesorias, y la producción de semen durante la estación reproductiva (Lincoln et al., 1972). Durante la estación reproductiva, las hembras no preñadas ciclan entre 5-7 veces (García et al., 2002; ver revisión Asher, 2011). El ciclo estral dura entre 17 y 19 días y la gestación 233 ± 4 días (García et al., 2002; Asher, 2007).

En vida libre y durante el período no reproductivo, los animales se distribuyen en grupos de hembras y grupos de machos solitarios (Clutton-Brock

et al., 1982). Previo a la época reproductiva la tolerancia entre machos disminuye, los grupos de machos comienzan a fragmentarse, y se dirigen a grupos de apareamiento compuestos por hasta veinte hembras (Lincoln y Guinness, 1973). Aunque el sistema de apareamiento más utilizado es el harem, alternativamente los machos pueden defender un territorio cuando este es rico en recursos (Carranza et al., 2000). Los machos de entre 5 y 11 años forman harenes rápidamente, mientras que los más jóvenes permanecen en la periferia del harem. El acceso a hembras por parte de los machos se vincula directamente con la capacidad de alcanzar y mantener el peso adulto, ya que el éxito en las peleas está relacionado con el peso corporal (Clutton-Brock et al., 1979). Esto se debe a que durante la estación reproductiva los machos dueños de harem disminuyen enormemente el tiempo de forrajeo, lo que resulta en una reducción drástica de la condición corporal (Clutton-Brock et al., 1982). Por lo tanto, los dueños de harems son principalmente aquellos machos que al inicio de la estación reproductiva poseen una condición corporal suficiente para tolerar las pérdidas ocurridas durante este período.

2. Hipótesis

2.1. Hipótesis general

La jerarquía social se relaciona directamente con el comportamiento agresivo y las características morfológicas y reproductivas de machos y hembras de ciervos.

2.2 Hipótesis específicas

» El comportamiento agresivo entre hembras de venado de campo alojadas en grupos de cría aumenta con la posición jerárquica, y disminuye por la presencia del macho en el encierro.

» Los machos de venado de campo de alta posición jerárquica poseen mayor tamaño corporal y de las astas, producción de testosterona, y volumen y calidad del semen que aquellos de menor posición jerárquica.

» Las hembras de ciervo rojo de alta posición jerárquica, con celo sincronizado farmacológicamente y con alimentación *ad libitum*, manifiestan celo más tempranamente y con mayor frecuencia, y poseen mayor tasa de preñez, tasa de concepción y tasa de crías macho que las hembras de menor jerarquía.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar la influencia de la jerarquía social sobre la agresividad entre hembras, y algunas características morfológicas y reproductivas de machos y hembras de cérvidos.

3.2 Objetivos específicos

Determinar si la posición jerárquica individual se vincula con:

- » la frecuencia de interacciones agresivas entre hembras de venado de campo, y si esta varía según la presencia o no del macho.
- » el peso, la concentración de testosterona, el tamaño corporal, testicular y de las astas, y las características de semen de machos de venado de campo.
- » la respuesta reproductiva a un tratamiento de sincronización de celo en hembras de ciervo rojo.

4. Estrategia de investigación

El venado de campo es una especie autóctona, considerada a nivel nacional como “prioritaria para la conservación” (Soutullo et al., 2013), y catalogada a nivel internacional como “casi-amenazada” (González et al., 2016). Sin embargo, aún se desconoce gran parte de la biología básica de la especie. En los últimos años se realizaron avances importantes en el conocimiento de la especie. Entre ellos se incluye la puesta a punto de protocolos anestésico, la descripción de métodos de colección de semen y de sus efectos fisiológicos (Fumagalli et al., 2012; 2015), y la caracterización del semen de los machos de esta especie (Beracochea et al., 2014). Sin embargo, el conocimiento sobre gran parte de la biología de las hembras de esta especie es aún muy escaso. En este contexto, esta Tesis incluyó un experimento en que se estudió la relación entre la posición jerárquica y el uso de interacciones agresivas entre hembras de la especie (Experimento I). Además, el segundo Experimento abordó la relación entre la posición en la jerarquía y las características morfológicas y reproductivas en los machos, lo que requirió que estos fueran manejados bajo anestesia general. Un tercer Experimento fue realizado para estudiar el efecto de la jerarquía social sobre algunas características reproductivas de hembras de ciervo con celo sincronizado. Para ello, se utilizaron hembras de ciervo rojo, una especie utilizada con fines productivos, y en la que la fisiología reproductiva (Scott et al., 2008; ver revisiones Asher, 2007; 2011) y el uso de biotecnologías reproductivas (ver revisiones Garde et al., 2006; Sontakke, 2018) han sido extensamente estudiadas.

5. Experimentos

5.1 Experimento I (Publicación I)

Retiro del macho, y frecuencia de interacciones agresivas y posición en la jerarquía en hembras de venado de campo (Ozotoceros bezoarticus)

Objetivos específicos

Determinar si la posición jerárquica se vincula con la frecuencia de interacciones agresivas entre hembras de venado de campo, y si este vínculo varía según la presencia o no del macho.

Materiales y métodos

El experimento constó de dos estudios, realizados durante febrero y marzo (*i.e* estación reproductiva; Ungerfeld et al., 2008a) en la ECFA. El Estudio 1 se realizó a partir de un total de 13 grupos de cría (Grupos 1 a 13 de aquí en adelante), cada uno integrado por 1 macho adulto y 4-6 hembras adultas (n= 39 hembras). El Estudio 2 fue realizado utilizando 6 grupos de cría (Grupos 1 a 6 de aquí en adelante) diferentes a los del Estudio 1 pero con características similares a estos (n= 31). Ninguna hembra se encontraba amamantando una cría durante el desarrollo de los Estudios. Todos los individuos se encontraban identificados mediante caravanas, y estaban acostumbrados a la presencia humana desde el nacimiento.

Se registraron todos los tipos de interacciones agresivas descritas entre hembras de venado de campo (Freitas-de-Melo et al., 2013): presencia, mirar, dirigir la cabeza, manotear, perseguir, boxear. Los registros fueron realizados durante 30-40 min, inmediatamente después de administrar la ración. En cada interacción agresiva se identificó el animal que dominó (*i.e* capaz de generar desplazamiento físico) y aquel que fue subordinado. Para cada día, el animal

que dominó más del 75% de las interacciones con respecto a otro individuo fue considerado dominante, y recibió una puntuación de 1, mientras el segundo individuo fue considerado subordinado y recibió una puntuación de 0. Se calculó un índice de éxito (IE; rango 0-1) para cada individuo de acuerdo a Barroso et al. (2000): número de individuos dominados/(número de individuos dominados + número de individuos que lo dominaron).

En el Estudio 2 se calculó la frecuencia del total de interacciones agresivas y el IE cuando el macho permaneció en el encierro (período “con macho”; 14 días, $475,0 \pm 24,9$ min/grupo) y luego de removerlo del encierro (período “sin macho”; 10 días, $262,5 \pm 9,2$ min/grupo). Durante este último período, el macho permaneció separado por un tejido, en el corredor contiguo (>5 m) al encierro. Allí, se le ofreció al macho la cantidad de ración correspondiente, por lo que la cantidad de ración por individuo suministrada a las hembras no varió entre los períodos. El macho fue reintroducido al encierro una vez finalizado cada período de registro. Se calculó el porcentaje de cambio individual en la frecuencia del total de interacciones agresivas iniciadas luego de retirar al macho.

En el Estudio 1, se estableció la correlación entre la frecuencia de cada tipo de interacción agresiva iniciada por un individuo y la frecuencia del total de interacciones agresivas realizadas por este (PROC CORR, SAS, Institute Inc, Cary, EEUU). Además, se estableció la relación entre la frecuencia de cada tipo de interacción agresiva y la frecuencia del total de interacciones agresivas, como variables dependientes, y el IE (anidado dentro del grupo) como factor fijo mediante un modelo lineal generalizado mixto (MLGM; PROC MIXED, SAS). Todas las frecuencias de interacciones agresivas antes mencionadas se relacionaron positivamente con el IE. En base a ello, en el Estudio 2 se consideró únicamente la frecuencia del total de interacciones agresivas iniciadas por una hembra. La relación entre la frecuencia del total de interacciones agresivas y el porcentaje de cambio individual en la frecuencia del total de interacciones agresivas luego de remover al macho, como variables dependientes, y el IE (anidado dentro del grupo y período) como efecto fijo fue testada mediante

MLGM (PROC MIXED). Otro MLGM fue diseñado para determinar la relación entre el IE (anidado dentro del grupo y el período) en los períodos “con macho” y sin macho” (PROC MIXED).

Resultados

Estudio 1

La frecuencia de cada tipo de interacción agresiva iniciada por una hembra se correlacionó con la frecuencia del total de interacciones agresivas iniciadas por los animales dominantes: presencia ($r^2 = 0,95$; $p < 0,0001$); manotear ($r^2 = 0,92$; $p < 0,0001$); dirigir la cabeza ($r^2 = 0,87$; $p < 0,0001$); mirar ($r^2 = 0,85$; $p < 0,0001$); perseguir ($r^2 = 0,85$; $p < 0,0001$); boxear ($r^2 = 0,38$; $p = 0,002$). Existió una relación positiva entre el IE y la frecuencia de perseguir [$F(13, 65) = 11,59$; $p < 0,0001$], manotear [$F(13, 65) = 11,47$; $p < 0,0001$], dirigir la cabeza [$F(13, 65) = 9,59$; $p < 0,0001$], mirar [$F(13, 65) = 33,58$; $p < 0,0001$], presencia [$F(13, 65) = 19,16$; $p < 0,0001$], boxear [$F(13, 65) = 8,23$; $p < 0,0001$], y el total de interacciones agresivas en todos los grupos ($F(13, 65) = 17,51$; $p < 0,001$) (Figura 1).

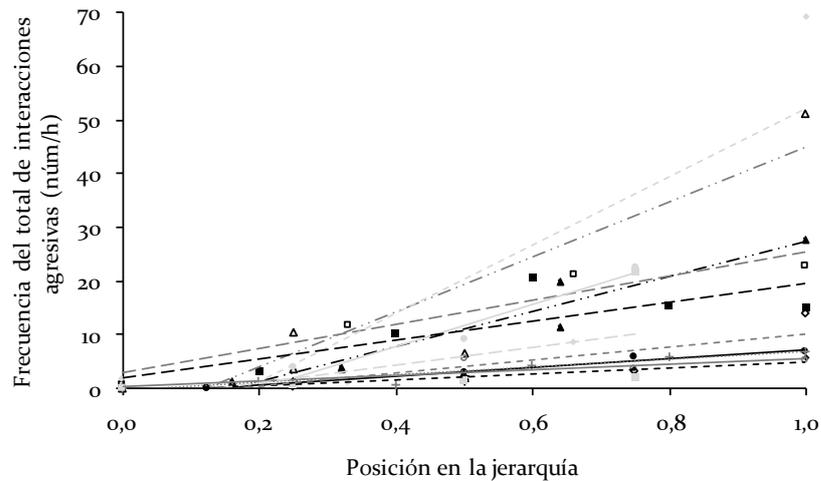


Figura 1. Relación entre la posición en la jerarquía (IE) y la frecuencia del total de interacciones agresivas iniciadas por hembras dominantes de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) hacia individuos subordinados mantenidos en 13 grupos de cría (Total= 65 hembras).

Grupo 1 (— ●); Grupo 2 (— ■); Grupo 3 (--- ◆); Grupo 4 (—▲); Grupo 5 (---- +); Grupo 6 (— ○); Grupo 7 (— □); Grupo 8 (--- ◇); Grupo 9 (— △); Grupo 10 (---- +); Grupo 11 (— ●); Grupo 12 (— ■); Grupo 13 (--- ◆).

El número de marcadores visibles en la figura es menor que el número de individuos ya que algunos datos están superpuestos.

Estudio 2

Se registraron 839 y 1734 interacciones agresivas en los períodos “con macho” y “sin macho”. La frecuencia del total de interacciones agresivas aumentó con el IE en ambos períodos ($F_{(12, 45,9)} = 19,9$; $p < 0,001$). El IE no varió entre los períodos “con macho” y “sin macho” ($p = 0,99$). La frecuencia del total de interacciones agresivas aumentó luego de remover al macho ($F_{(1, 27)} = 3,5$; $p < 0,001$; Figura 2). El porcentaje de cambio en la frecuencia de interacciones agresivas entre períodos se relacionó positivamente con el IE ($F_{(6, 24)} = 2,56$; $p = 0,05$; Figura 3). Durante el período “con macho” el comportamiento “boxear” fue observado una sola vez, pero fue observado 40 veces en el período “sin macho”.

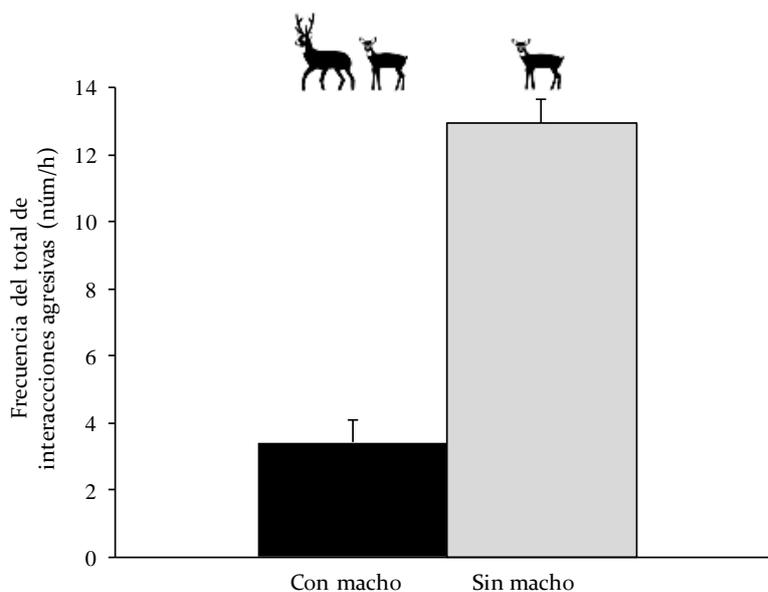


Figura 2. Frecuencia del total de interacciones agresivas realizadas por hembras dominantes de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) hacia hembras subordinadas cuando el macho estaba presente y luego de retirarlo del encierro (períodos “con macho” y “sin macho” respectivamente). Datos colectados en 6 grupos de cría (Total= 31 hembras).

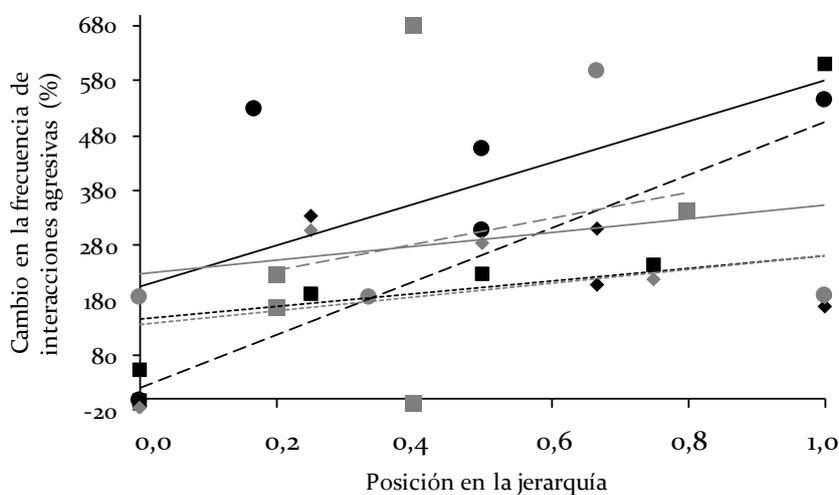


Figura 3. Relación entre la posición en la jerarquía (IE) y el porcentaje de cambio in la frecuencia de interacciones agresivas iniciadas por hembras dominantes hacia otras subordinadas luego de remover al macho del encierro. Dados colectados en hembras de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) mantenidas en 6 grupos de cría (Total= 31 hembras).

Grupo 1 (—●); Grupo 2 (---■); Grupo 3 (---◆); Grupo 4 (—●); Grupo 5 (—■); Grupo 6 (---◆).

5.2 Experimento II (Publicación II)

Posición en la jerarquía, y características corporales y reproductivas en machos de venado de campo (Ozotoceros bezoarticus)

Objetivos específicos

Determinar si la posición jerárquica se vincula con la concentración de testosterona, el tamaño de las astas, y las características del semen de machos de venado de campo.

Materiales y métodos

El experimento fue realizado en la ECFA, en cuatro años, durante febrero y marzo (*i.e* estación reproductiva; Ungerfeld et al., 2008a). En total se utilizaron cinco grupos de sólo machos (Grupos 1 al 5 de acá en adelante), constituidos por 18 machos. Cada grupo estaba alojado en un encierro con características similares a las descritas en el Experimento I.

Se registró el comportamiento agresivo en cada grupo, durante una hora por día, seis días a la semana durante los tres meses previos a la manipulación de los animales. La posición en la jerarquía (IE) se determinó como en el Experimento I. Los animales fueron anestesiados siguiendo el protocolo anestésico descrito por Fumagalli et al. (2012). A continuación, se presenta la descripción metodológica correspondiente a los resultados más relevantes del presente Experimento. Se extrajo sangre de cada animal anestesiado mediante venopunción de la vena cefálica. La sangre fue centrifugada y el suero obtenido se almacenó a -20 °C. Se determinó la concentración de testosterona sérica mediante un kit comercial para radioinmunoanálisis en fase sólida. Se determinó la circunferencia de la corona, el largo de la segunda punta (Ungerfeld et al.,

2008b) y la distancia desde la corona a la punta de la tercer punta -considerada como el largo total del asta- de las astas de los individuos de los grupos 1, 2 y 3.

Se colectó semen por electroeyaculación, el que fue evaluado de acuerdo con Beracochea et al. (2014). Como algunas de las variables consideradas estuvieron inter-correlacionadas, se realizaron análisis de componentes principales (ACP; PROC PRINCOMP, SAS). El ACP aplicado a las variables de semen creó el factor *vitalidad del semen* (variables incluidas: número de espermatozoides con motilidad progresiva, con morfología normal, y con membrana íntegra). El análisis de componentes principales realizado a las características de las astas resultó en el componente *tamaño de astas* (variables incluidas: circunferencia de la corona, largo de la segunda punta, y largo total del asta). Se estableció la asociación entre la concentración de testosterona, *vitalidad del semen*, y *tamaño de astas* como variables dependientes y el IE (anidado dentro del grupo; excepto para *tamaño de astas*) como efecto fijo mediante MLGM (PROC MIXED).

Resultados

A continuación, se presentan los resultados más relevantes del Experimento. También se incluye una tabla con todas las relaciones entre las variables consideradas en el Experimento (Tabla 1).

La concentración de testosterona aumentó con el IE en los Grupos 1, 2 y 4; pero tendió a estar negativamente relacionado en el Grupo 3 (Tabla 1; Figura 4). El *tamaño de astas* aumentó con el IE (Tabla 1; Figura 5). La *vitalidad del semen* estuvo negativamente relacionada al IE en los Grupos 2, 3 y 5, mientras se observó una relación positiva en el Grupo 5 (Tabla 1; Figura 6).

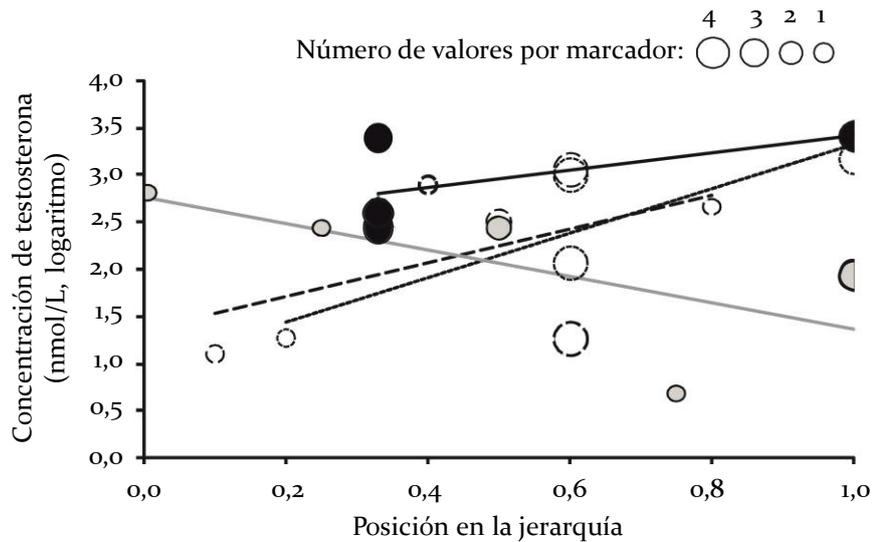


Figura 4. Concentración de testosterona y posición en la jerarquía en cuatro grupos de machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*). Los Grupos 1, 2 y 4 estaban formados por machos de entre 4 y 7 años, y el Grupo 3 por machos de 2-3 años (total=19 machos).

Grupo 1 (---○); Grupo 2 (—●); Grupo 3 (—○); Grupo 4 (---○).

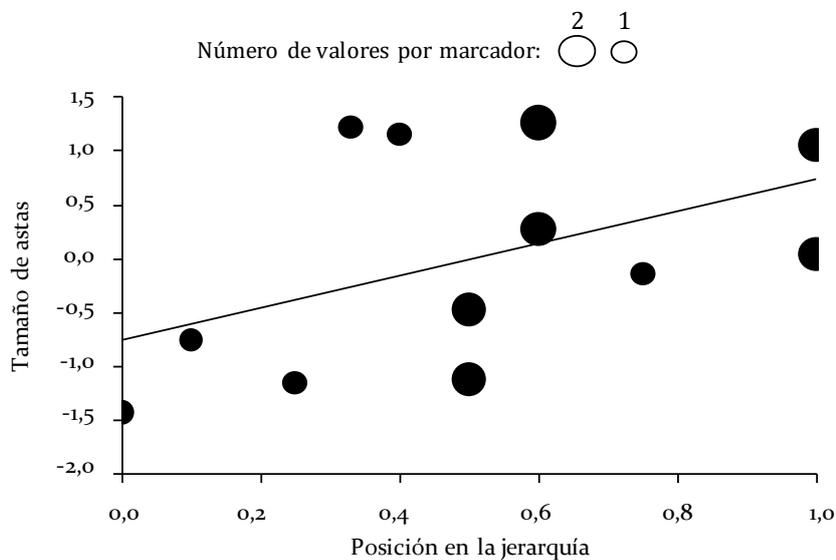


Figura 5. *Tamaño de astas* en machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) de acuerdo a la posición en la jerarquía (Total= 12 machos). El *tamaño de astas* fue creado mediante un análisis de componentes principales (variables incluidas: circunferencia de la corona, largo de la segunda punta y largo total del asta).

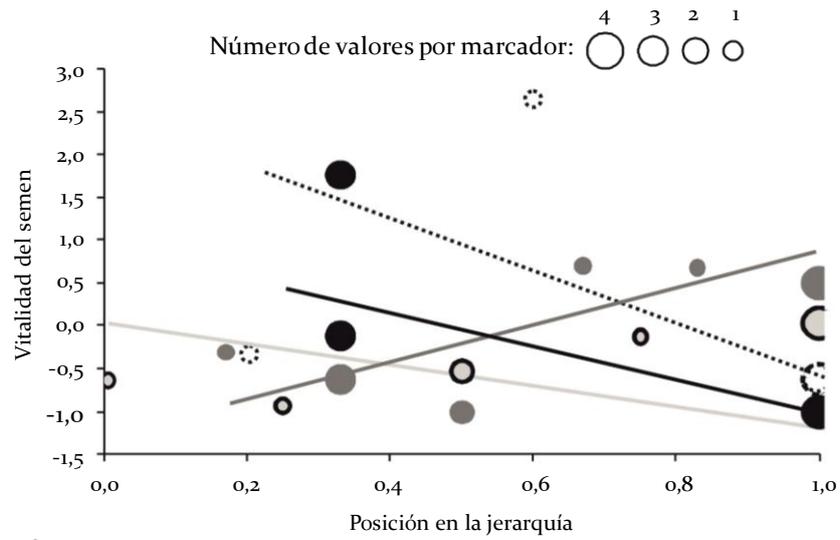


Figura 6. *Vitalidad del semen* de acuerdo a la posición en la jerarquía en cuatro grupos de machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) mantenidos en condiciones de semi-cautiverio. El Grupo 2 y 4 incluía machos de 4 y 7 años, el Grupo 3 machos de 2-3 años, y el Grupo 5 individuos de 2-5 años (Total= 17 machos). La *vitalidad del semen* fue creada utilizando un análisis de componentes principales (variables incluidas: número de espermatozoides con motilidad progresiva, con morfología normal, y con membrana íntegra).

Grupo 2 (— ●); Grupo 3 (— ○); Grupo 4 (--- ○); Grupo 5 (— ●).

Tabla 1. Significancia de la pendiente (valores de t y p respectivamente) caracterizando la relación entre la concentración de testosterona, las características somáticas, del semen, y de las astas, y la posición en la jerarquía (como índice de éxito, IE) en cinco grupos de machos de venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*) mantenidos en condiciones de semi-cautiverio. ns: p>0.1.

Variable dependiente	Efecto fijo	Grupo				
		1	2	3	4	5
Concentración de testosterona	IE	13,8; <0,0001	18,4; <0,0001	-1,9; 0,07	6,2; <0,0001	ns
	Edad	-1,9; 0,07	ns	3,9; 0,001	ns	ns
Semen						
<i>Vitalidad del semen</i> ^A	IE	-	-113,9; 0,0001	-34,2; <0,0001	-36,9; <0,0001	47,2; <0,0001
	Concentración de testosterona	-	53,9; 0,0001	-30,1; <0,0001	35,6; 0,0001	-13,7; <0,0001
	<i>Tamaño testicular</i> ^D	-	-18,9; <0,0001	-41,7; <0,0001	20,8; <0,0001	-28,4; <0,0001
	Edad	-	-	37,7; <0,0001	-	46,1; <0,0001
<i>Integridad de acrosoma</i> ^B	IE	-	ns	ns	ns	ns
	Concentración de testosterona	-	ns	ns	ns	ns
	Edad	-	ns	ns	ns	ns
<i>Tamaño de astas</i> ^C	IE	-	-	2,6; 0,02	-	-
	Edad	ns	ns	ns	-	-
IE	Edad	3,5; 0,008	-	10,7; 0,0001	-	-
	<i>Tamaño corporal</i> ^E	-9,4; <0,0001	-	ns	-	-
	<i>Tamaño de astas</i>	9,4; <0,0001	-	15,1; 0,0001	-	-

Componentes creados utilizando un análisis de componente principal (variables incluidas): ^A*Vitalidad del semen* (número de espermatozoides con motilidad progresiva, con morfología normal, y con membrana íntegra); ^B*Integridad de acrosoma* (porcentaje de espermatozoides con acrosoma íntegro); ^C*Tamaño de astas* (circunferencia de la corono, largo de la segunda punta, y largo total del asta);

^D*Tamaño testicular* (índice gonado somático y volumen de ambos testículos); ^E*Tamaño corporal* (peso corporal, altura a la cruz, y circunferencia de cuello).

5.3 Experimento III (Publicación III)

Rango social y desempeño reproductivo en un rodeo de hembras de ciervo rojo (Cervus elaphus)

Objetivos específicos

Determinar si la posición jerárquica se vincula con la respuesta reproductiva a un tratamiento de sincronización de celo en hembras de ciervo rojo.

Materiales y métodos

El estudio fue realizado en un campo experimental de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado en Tequisquiapan (Querétaro, México, 20°36'N, 99°55'O, 1881 msnm). Se utilizaron 49 hembras adultas alojadas en dos grupos (Grupo A: n= 21; Grupo B: n= 28) en encierros independientes. Las hembras permanecieron aisladas del contacto directo con machos (distancia mínima= 30 m) desde la estación reproductiva anterior. La alimentación de los animales consistió en alfalfa ofrecida *ad libitum* (0,99 y 0,75 kg de materia seca/ha.kg⁻¹ de ciervo en el Grupo 1 y 2 respectivamente). Los individuos estaban identificados utilizando caravanas, y adicionalmente fueron pintadas con diferentes colores en ambos lados de su cuerpo utilizando pintura no tóxica. Se sincronizó el ciclo estral de todas las hembras utilizando dispositivos intravaginales conteniendo 0,3 g de progesterona (CIDR-G, Pfizer Animal Health, DEC Manufacturing, Hamilton, Nueva Zelanda) que permanecieron *in situ* por 12 días. Todos los animales recibieron una inyección intramuscular de 200 UI de eCG (Serigran, Ovejero Laboratorios, Puebla, México) al momento de retirar el CIDR.

El comportamiento agresivo fue registrado por el mismo observador en cada grupo durante 6 h/día (8:00-11:00 h y 15:00-18:00 h), durante 5 días, mientras los animales recibían grano de maíz entero. Durante este período, se registraron todas las interacciones que resultaron en desplazamiento físico, y en base a ello se calculó el índice de éxito individual (IE) como en fue explicado en el Experimento I. Las hembras fueron categorizadas de acuerdo a su IE de acuerdo a Álvarez et al. (2003; 2007) y Ungerfeld y Correa (2007) como de alto (AR; $SI \geq 0,67$; $n = 13$), medio (MR; $0,33 < SI < 0,67$; $n = 20$) o bajo rango (BR; $SI \leq 0,33$; $n = 16$).

Luego de retirar los CIDRs, se introdujo un macho adulto y con experiencia sexual en cada grupo de hembras. Tres observadores identificaron las hembras montadas por el macho durante los siguientes 5 días a través de observaciones continuas entre las 8:00 y 19:00 h. El tiempo al inicio del celo de cada individuo fue considerado desde el retiro del CIDR hasta la primera monta registrada. El porcentaje de hembras que manifestaron celo fue calculado para cada rango social. Luego de los 5 días, el macho fue retirado del encierro y las hembras permanecieron sin contacto físico con ningún macho hasta el siguiente período de partos.

Los partos se registraron por observaciones diarias (2 h en la mañana y 2 h en la tarde) durante 10 días considerando los días esperados de partos, de acuerdo a la duración de la gestación de la especie ($233 \pm 2-4$ días; ver revisión Asher, 2007). No existieron partos luego de ese período. El sexo de las crías fue registrado y la tasa de preñez fue calculada como hembras con cría*100/total de hembras tratadas. La tasa de concepción fue calculada como hembras con cría*100/hembras que manifestaron celo. La duración de la gestación fue calculada como el intervalo entre la fecha de la primera monta y la fecha de parto.

El tiempo al celo y la duración de la gestación fueron comparados entre rangos mediante ANOVA. El porcentaje de hembras en celo, porcentaje de crías machos, tasa de preñez y tasa de concepción fueron comparadas según el rango mediante Chi cuadrado. Se realizaron regresiones logísticas entre el IE y el

porcentaje de hembras en celo, porcentaje de crías macho, tasa de concepción y tasa de preñez. Además, se realizaron regresiones lineales múltiples entre el IE y el tiempo al celo y la duración de la gestación.

Resultados

No se registraron diferencias en las variables de respuesta consideradas de acuerdo al rango social de las hembras (Tabla 2). El rango social, la edad y el peso corporal no estuvieron relacionadas con el tiempo al celo ($r^2= 0,09$; $P= 0,17$) y la duración de la gestación ($r^2= 0,10$; $P= 0,20$).

Tabla 2. Desempeño reproductivo (media \pm EEM) de hembras de ciervo rojo (*Cervus elaphus*) de alto (AR), medio (MR) y bajo rango jerárquico (BR) luego de un tratamiento hormonal de sincronización de celos. No existieron diferencias en ninguno de los parámetros estudiados.

	BR	MR	AR
Hembras en celo (%)	7/16 (50,0%)	12/20 (60,0%)	8/13 (61,5%)
Tiempo al inicio del celo (h)	46,3 \pm 4,3	37,0 \pm 3,9	38,6 \pm 5,7
Duración de la gestación (días)	234,3 \pm 0,8	238,3 \pm 3,0	243,5 \pm 5,9
Tasa de preñez (%)	13/16 (81,2%)	15/18 (83,3%)	9/13 (69,2%)
Tasa de concepción (%)	6/7 (85,7%)	9/10 (90,0%)	6/8 (75,0%)
Crías macho (%)	5/13 (38,5%)	5/15 (33,3%)	5/9 (55,6%)

6. Discusión general

A partir de los resultados de esta Tesis se demostró que la posición de las hembras de venado de campo en la jerarquía influye positivamente sobre su comportamiento agresivo (Experimento I), y que la jerarquía se vincula positivamente con la concentración de testosterona y el *tamaño de astas* de los machos y negativamente con la *vitalidad del semen* (Experimento II). Sin embargo, no se comprobó que el rango social se vincule con la respuesta reproductiva de hembras de ciervo rojo cuando el alimento fue abundante y estuvo ampliamente distribuido. Por lo tanto, si bien la posición jerárquica tuvo consecuencias sobre el patrón de conducta y algunas características morfológicas y reproductivas de machos y hembras de ciervos, pero esto fue moderado por el acceso al alimento.

En concordancia con las hipótesis planteadas en el Experimento I, la frecuencia de interacciones agresivas desplegadas por una hembra de venado de campo se vinculó positivamente con su posición en la jerarquía, y aumentó aproximadamente 280 % luego de retirar al macho del encierro. Este último incremento incluyó un aumento destacado del uso de “boxear”; la interacción más agresiva del repertorio agonístico de las hembras de la especie. Por lo tanto, la ausencia del macho generó un aumento tanto en la frecuencia como en la intensidad de las agresiones entre las hembras. Esto se asociaría a una inestabilidad y reestructura social resultante de la remoción de un individuo del grupo (cabras: Fernández, et al., 2007; Andersen et al., 2008). Sin embargo, ya que el macho domina a las hembras en grupos de cría de venado de campo (Freitas-de-Melo et al., 2013), no es posible determinar si la reducción en la frecuencia de agresiones observadas se debe al rol de control ejercido por el macho o a que es el individuo alfa de la jerarquía. Por lo tanto, futuros estudios deberían realizarse con la finalidad de dilucidar este aspecto. Sin embargo, en este trabajo la posición individual dentro de la jerarquía no se modificó, lo que podría ser debido al tiempo reducido en que el macho estuvo ausente en el encierro.

En acuerdo con la tercera hipótesis de este trabajo, el aumento en la frecuencia de interacciones agresivas fue mayor a medida que aumentaba la jerarquía. Esto podría explicarse por un intento de estas hembras de subir en la jerarquía, o de mantener su rango social (ciervo dama: Mattiangeli et al., 1999; Jennings et al., 2010; ciervo rojo: Bartoš et al., 2010; venado de campo: Freitas-de-Melo et al., 2013). Por otra parte, los machos dominan a las hembras y permanecen la mayor parte del tiempo junto a la ración durante la alimentación. Por lo tanto, el acceso al alimento con bajo riesgo de lesiones habría aumentado en ausencia del macho. Como consecuencia, la frecuencia de agresiones habría aumentado. Además, las hembras de mayor IE son más frecuentemente desplazadas y permanecen más alejadas del macho que las hembras de menor jerarquía (Ungerfeld y Freitas-de-Melo, 2014). Por lo tanto, es posible que el macho generara un efecto inhibitorio mayor sobre las hembras de mayor IE, lo que explicaría el mayor aumento de las interacciones agresivas en estas hembras que en las de menor jerarquía.

El aumento observado en la frecuencia de interacciones agresivas entre las hembras, luego de retirar al macho también podría vincularse al “rol de control” ejercido por los machos (ver revisión Singh y Boomsma, 2015). Como ocurrió entre hembras de venado de campo en el presente estudio, la frecuencia de agresiones entre hembras de primates aumentó luego de retirar al macho, el que generalmente posee la mayor posición en la jerarquía (Oswald y Erwin, 1976; Flack et al., 2005a; 2005 b). En ciervos, los machos de alta posición jerárquica intervienen en las agresiones entre otros individuos, reduciendo así la agresividad dentro del grupo (Jennings et al., 2009; 2011; 2018).

A partir de los resultados del Experimento II, se comprobó la hipótesis de que la posición en la jerarquía se vincula positivamente con el *tamaño de astas* de los machos. En la naturaleza, varios machos de venado de campo cohabitan en pequeños grupos mixtos (Cosse y González, 2013), por lo que es esperable que, como en ciervo rojo (Kruuk et al., 2002), el acceso a las hembras involucre competencia física. Tener astas más grandes podría ser ventajoso en especies en

que el macho permanece cerca de las hembras durante largos períodos de tiempo antes que las hembras manifiesten celo (Morales-Piñeyrúa y Ungerfeld, 2012), ya que estos machos podrían monopolizar las montas (Willisch et al., 2012). En este contexto, las astas de mayor tamaño favorecerían un mayor éxito reproductivo de los machos de mayor IE que aquellos con menores astas.

La *vitalidad del semen* se relacionó negativamente con el IE en tres de cuatro grupos de machos. Esto coincidiría con el modelo propuesto por Parker (1990) en que los machos que deben competir más intensamente por acceder a las hembras, invertirían más en sus características seminales que aquellos con acceso preferencial a las hembras. Sin embargo, ya que los machos de venado de campo eyaculan poco volumen de semen (Beracochea et al., 2014) y poseen testículos proporcionalmente pequeños (Pérez et al., 2013), es probable que las estrategias pre-copulatorias tengan mayor impacto en el éxito reproductivo de los machos que las características del semen (Pérez et al., 2013). Por lo tanto, ya que los machos de menor jerarquía tendrían mejor calidad de semen, pero los machos de mayor IE tendrían acceso preferencial a las hembras, futuros estudios deberían abordar la relación entre la posición en la jerarquía y el éxito reproductivo de los machos.

En las condiciones de este estudio, la relación entre el IE y algunas características estudiadas difirió entre los grupos de machos. Por ejemplo, la relación entre el IE y la concentración de testosterona en el Grupo 3, un grupo integrado por animales de 2-3 años, fue la opuesta que la observada en grupos de machos de mayor edad (Grupos 1, 2 y 4). La testosterona en machos de venado de campo alcanza sus concentraciones máximas durante la estación reproductiva, y las astas continúan creciendo hasta los 6 años de edad (Ungerfeld et al., 2008a, 2011). Por lo tanto, algunos machos podrían no haber alcanzado su máximo desarrollo corporal y endócrino, lo que podría explicar parcialmente la inconsistencia en los resultados entre grupos. Además, las agresiones resultan en un aumento de las concentraciones de cortisol y una disminución en la testosterona sérica (ver revisión Sapolsky, 2005). El estrés vinculado a alcanzar y

mantener una posición específica en la jerarquía varía según la estructura social (ver revisión Bartoš et al., 2012). Generalmente se asume que en grupos estables, los animales de menor estatus social reciben la mayoría de las agresiones y por lo tanto presentan las mayores respuestas de estrés. Sin embargo, los animales de mayor jerarquía pueden estar expuestos a un mayor estrés social (e.g. frecuencia e intensidad de agresiones en encuentros agresivos) en grupos comparativamente menos estables. En este sentido, es posible que los grupos de machos adultos más jóvenes (e.g. 2-3 años) fueran más inestables que aquellos conformados por machos adultos de mayor edad (e.g. 4-7 años), lo que al mismo tiempo ayudaría a explicar los resultados contrastantes entre los grupos de machos más jóvenes y los integrados por individuos de mayor edad. Por lo tanto, se deberían realizar futuros estudios para establecer cómo la estructura etaria y la estabilidad social afectan la relación entre la jerarquía social y las características morfológicas y reproductivas en grupos de machos de venado de campo.

En el Experimento III el rango social no se relacionó con la respuesta reproductiva de hembras de ciervo rojo a un tratamiento de sincronización de celos. Las condiciones de cautiverio en que se realizó el estudio, incluyendo la alimentación *ad libitum*, podrían haber enmascarado el efecto positivo del rango social sobre el desempeño reproductivo reportado en hembras de esta especie en condiciones silvestres (Clutton-Brock et al., 1984; 1986). Los resultados de esta Tesis, en conjunto con reportes previos en la especie (Ceacero et al., 2012), y a información disponible en otras especies de rumiantes (cabras: Ungerfeld et al., 2007; carneros: Ungerfeld y González-Pensado, 2008; hembras de venado de campo: Morales-Piñeyrúa et al., 2014) reafirman el concepto de que muchas especies de rumiantes utilizan estrategias plásticas para enfrentar las condiciones ambientales. Estas estrategias, permitirían disminuir los efectos de la presión social cuando los animales acceden fácilmente a abundante cantidad de alimento, y por lo tanto no precisan competir por acceder a éste. Así, pese a una alta densidad de animales, la gran cantidad de alimento disponible habría permitido que todos los individuos cubran sus necesidades. Esto concuerda con que la

frecuencia de agresiones entre machos de ciervo rojo es menor cuando están en la naturaleza que cuando se encuentran en áreas pequeñas de pastoreo compuestas por pastura con distribución y calidad heterogénea (Appleby, 1980; Thouless, 1990). También coincide con que en los rumiantes domésticos existe una mayor restricción de los animales de menor rango social cuando el alimento es ofrecido en comederos de pequeño tamaño (Jørgensen et al., 2007), mientras que cuando pastorean en áreas abiertas los animales modifican su estrategia de pastoreo, minimizando o incluso desapareciendo las diferencias reproductivas con las hembras de alto rango (cabras: Barroso et al., 2000; vacas: Ungerfeld et al., 2014). Por lo tanto, la abundancia de alimento ofrecido, sumado a posibles estrategias de pastoreo, podrían explicar que no se hallaran diferencias en la respuesta reproductiva según el rango social.

En síntesis, en esta Tesis se comprobó que la posición en la jerarquía se relacionó positivamente a la frecuencia de agresiones desplegadas entre hembras de venado de campo y al cambio en el uso de este comportamiento luego de retirar el macho del encierro (Experimento I). Además, se comprobó que la jerarquía se relaciona positivamente con el *tamaño de astas* y negativamente con la *vitalidad del semen* (Experimento II). Estos últimos resultados, tendrían relevancia considerable para la crío-preservación de semen de la especie, ya que parecería más ventajoso coleccionar semen de mejor calidad de los individuos de menor posición en la jerarquía que de aquellos de mayor posición social. Por otra parte, la información resultante del Experimento I, en conjunto con información previamente generada (Freitas-de-Melo et al., 2013, Ungerfeld y Freitas-de-Melo, 2014), permite un mejor entendimiento de las relaciones sociales hembra-hembra y macho-hembra, y de las consecuencias de reestructurar grupos. Esto favorece el desarrollo potencial de nuevas medidas de manejo, permitiendo mejorar las condiciones de alojamiento y bienestar animal en grupos de cría. Dado que el venado de campo es considerado localmente como especie “prioritaria para la conservación” (Soutullo et al., 2013), y globalmente como “casi amenazada” de extinción (González et al., 2016), la información generada en esta Tesis tiene aún

más relevancia. Por otra parte, no fue posible demostrar que la jerarquía afecte el desempeño reproductivo y el sexo de la cría de hembras de ciervo rojo mantenidas en condiciones de cautiverio y con alimentación *ad libitum* (Experimento III). En este sentido, es posible considerar que suplementar con alimento de alta calidad a animales en cautiverio reduce las consecuencias negativas de la competencia social. Sumado, el momento en que las hembras manifestaron celo y el momento de parto no difirieron entre rangos sociales. Esto facilitaría las medidas de manejo y permitiría obtener animales más homogéneos para la faena. En síntesis, los resultados de esta Tesis aportarían información sobre los efectos de la jerarquía social sobre el comportamiento y la fisiología reproductiva en dos especies de ciervos, lo que podría resultar en potenciales beneficios tanto para la conservación como la producción en cérvidos.

7. Conclusiones generales

» La frecuencia de agresiones entre hembras de venado de campo mantenidas en grupos de cría en semi-cautiverio aumentó con la posición en la jerarquía.

» La frecuencia de agresiones entre hembras de venado de campo mantenidas en grupos de cría en semi-cautiverio aumentó luego de remover el macho del encierro, especialmente en aquellas hembras de mayor jerarquía.

» La posición en la jerarquía de machos de venado de campo mantenidos en semi-cautiverio estuvo positivamente relacionada al *tamaño de astas*, y en la mayoría de los grupos negativamente relacionada a la *vitalidad del semen*.

» Existió una gran variación entre los grupos de machos en la relación entre la posición en la jerarquía y la concentración de testosterona, probablemente relacionada a la variación etaria en cada grupo.

» Con alimentación *ad libitum* de alta calidad, el rango social de hembras de ciervo rojo con celo sincronizado no afectó el tiempo al inicio del celo, el porcentaje de hembras que manifestaron celo, la duración de la gestación, las tasas de preñez y de concepción, ni el sexo de la cría.

8. Referencias bibliográficas

Aguirre V, Orihuela A, Vazquez R (2007) Seasonal variations in sexual behavior, testosterone, testicular size and semen characteristics, as affected by social dominance, of tropical hair rams (*Ovis aries*). *Animal Science Journal* 78, 417-423.

Altmann M, Altmann J (1991) Models of status-correlated bias in offspring sex ratio. *American Naturalist* 137, 542-555.

Álvarez L, Arvizu RR, Luna JA, Zarco LA (2010) Social ranking and plasma progesterone levels in goats. *Small Ruminant Research* 90, 161-164.

Álvarez L, Martin GB, Galindo F, Zarco LA (2003) Social dominance of female goats affects their response to the male effect. *Applied Animal Behaviour Science* 84, 119-126.

Álvarez L, Zarco L, Galindo F, Blache D, Martin GB (2007) Social rank and response to the “male effect” in the Australian Cashmere goat. *Animal Reproduction Science* 102, 258-266.

Andersen IL, Roussel S, Ropstad E, Braastad BO, Steinheim G, Janczak AM, Jorgensen GM, Bøe KE (2008) Social instability increases aggression in groups of dairy goats, but with minor consequences for the goats' growth, kid production and development. *Applied Animal Behaviour Science* 114, 132-148.

Apollonio M, Festa-Bianchet M, Mari F (1989) Effects of removal of successful males in a fallow deer lek. *Ethology* 83, 320-325.

Appleby MC (1980) Social rank and food access in red deer stags. *Behaviour* 74, 294-309.

Appleby MC (1982) The consequences and causes of high social rank in red deer stags. *Behaviour* 80, 259-273.

Araujo P, Pinheiro LC, Hötzel MJ (2012) Effects of social dominance, water trough location and shade availability on drinking behaviour of cows on pasture. *Applied Animal Behaviour Science* 139, 175-182.

Asher GW (2007) Gestation length in red deer: genetically determined or environmentally controlled? *Society of Reproduction and Fertility supplement* 64, 255-260.

Asher GW (2011) Reproductive cycles of deer. *Animal Reproduction Science* 124, 170-175.

Bakken M (1995) Sex-ratio variation and maternal investment in relation to social environment among farmed silver-fox vixens (*Vulpes vulpes*) of high competition capacity. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 112, 463-468.

Barroso FG, Alados CL, Boza J (2000) Social hierarchy in the domestic goat: effect on food habits and production. *Applied Animal Behaviour Science* 69, 35-53.

Bartoš L (1986) Dominance and aggression in various sized groups of red deer stags. *Aggressive Behavior* 12, 175-182.

Bartoš L (1990) Social status and antler development in red deer. En: Bubenik GA, Bubenik AB (Eds.) *Horns, pronghorns and antlers: evolution, morphology and social significance*. Springer-Verlag, New York, pp. 442-459.

Bartoš L, Bubenik GA (2011) Relationship between rank-related behavior, antler cycle timing and antler growth in deer: behavioural aspects. *Animal Production Science* 51, 303-310.

Bartoš L, Bubenik GA, Kužmová E (2012) Endocrine relationships between rank-related behavior and antler growth in deer. *Frontiers in Bioscience* 4, 1111-1126.

Bartoš L, Losos S (1997) Response of antler growth to changing rank of fallow deer buck during the velvet period. *Canadian Journal of Zoology* 75, 1934-1939.

Bartoš L, Reyes E, Schams D, Bubenik G, Lobos A (1998) Rank dependent seasonal levels of IGF-1, cortisol and reproductive hormones in male pudu (*Pudu pudu*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120, 373-378.

Bartoš L, Schams D, Bubenik GA, Kotrba R, Tománek M (2010) Relationship between rank and plasma testosterone and cortisol in red deer males (*Cervus elaphus*). *Physiology & Behavior* 101, 628-634.

Beisner BA, McCowan B (2013) Policing in nonhuman primates: Partial interventions serve a prosocial conflict management function in rhesus macaques. *PloSOne* 8, e77369.

Beracochea F, Gil J, Sestelo A, Garde JJ, Santiago-Moreno J, Fumagalli F, Ungerfeld R (2014) Sperm characterization and identification of sperm subpopulations in ejaculates from pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Animal Reproduction Science* 149, 224-230.

Carranza J (2000) Environmental effects on the evolution of mating systems in endotherms. En: Apollonio M, Festa-Bianchet M, Mainardi D (Eds.) *Vertebrate Mating Systems*. World Scientific, Erice, pp. 106-139.

Cassinello J, Gomendio M (1996) Adaptive variation in litter size and sex ratio at birth in a sexually dimorphic ungulate. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 263, 1461-1466.

Ceacero F, García AJ, Landete-Castillejos T, Bartošová J, Bartoš L, Gallego L (2012) Benefits for dominant red deer hinds under a competitive feeding system: food access behavior, diet and nutrient selection. *PloS One* 7, e32780.

CITES (Convention of International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (2019). Disponible en: https://www.cites.org/eng/gallery/species/mammal/pampas_deer.html. Último acceso: 16 de agosto de 2019.

Clements MN, Clutton-Brock TH, Albon SD, Pemberton JM, Kruuk LE (2011) Gestation length variation in a wild ungulate. *Functional Ecology* 25, 691-703.

Clutton-Brock TH, Albon SD, Gibson RM, Guinness FE (1979) The logical stag: adaptive aspects of fighting in red deer (*Cervus elaphus L.*). *Animal Behaviour* 27, 211-225.

Clutton-Brock TH, Albon SD, Guinness FE (1984) Maternal dominance, breeding success and birth sex ratios in red deer. *Nature* 308, 358-360.

Clutton-Brock TH, Albon SD, Guinness FE (1986) Great expectations: dominance, breeding success and offspring ratios in red deer. *Animal Behaviour* 34, 460-471.

Clutton-Brock TH, Guinness FE, Albon SD (1982) *Red Deer: Behaviour and Ecology of Two Sexes*. Chicago University Press, Chicago, 378 p.

Clutton-Brock TH, Parker GA (1995) Punishment in animal societies. *Nature* 373, 209.

Correa LA, Zapata B, Samaniego H, Soto-Gamboa M (2013) Social structure in a family group of Guanaco (*Lama guanicoe*, Ungulate): Is female hierarchy based on 'prior attributes' or 'social dynamics'? Behavioural Processes 98, 92-97.

Cosse M, González S (2013) Demographic characterization and social patterns of the Neotropical pampas deer. Springer Plus 2, 259.

Côté SD (2000) Dominance Hierarchies in Female Mountain Goats: Stability, Aggressiveness and Determinants of Rank. Behaviour 137, 1541-1566.

Côté SD, Festa-Bianchet M (2001) Reproductive success in female mountain goats: the influence of age and social rank. Animal Behaviour 62, 173-181.

Chunwang L, Zhigang J, Yan Z, Caie Y (2004) Relationship between serum testosterone, dominance and mating success in Père David's deer stags. Ethology 110, 681-691.

Delbene L, Ungerfeld R (2019) Seasonal pattern of agonistic and marking behaviour of adult and young pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) males. Acta Ethologica, 22, 91-98.

Dušek A, Bartoš L, Švecová L (2007) The effect of a mother's rank on her offspring's pre-weaning rank in farmed red deer. Applied Animal Behaviour Science 103, 146-155.

Endo A, Doi T, Shiraki A (1997) Post-copulative guarding: mating behaviour of non-territorial male sika deer (*Cervus nippon*) in an enclosure. *Applied Animal Behaviour Science* 54, 257-263.

Estévez I, Andersen IL, Nævdal E (2007) Group size, density and social dynamics in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 103, 185-204.

Favre M, Martin JG, Festa-Bianchet M (2008) Determinants and life-history consequences of social dominance in bighorn ewes. *Animal Behaviour* 76, 1373-1380.

Fernández MA, Álvarez L, Zarco L (2007) Regrouping in lactating goats increases aggression and decreases milk production. *Small Ruminant Research* 70, 228-232.

Flack JC, de Waal FBM, Krakauer DC (2005b) Social structure, robustness, and policing cost in a cognitively sophisticated species. *The American Naturalist* 165, E126-E139.

Flack JC, Krakauer DC, de Waal, FBM (2005a) Robustness mechanisms in primate societies: a perturbation study. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science* 272, 1091-1099.

Flueck WT (2010) Exotic deer in southern Latin America: what do we know about impacts on native deer and on ecosystems? *Biological Invasions* 12, 1909-1922.

Freitas-de-Melo A, Morales-Piñeyrúa JT, Ungerfeld R (2013) Agonistic male-female and female-female behaviour in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). North-Western Journal of Zoology 9, 127-130.

Fričová B, Bartoš L, Bartošová J, Panamá J, Šustr P, Jozífková E (2007) Females presence and males agonistic encounters in fallow deer *Dama dama* during the rut. Folia Zoologica 56, 253-262.

Fumagalli F, Villagrán M, Damián JP, Ungerfeld R (2012) Physiological and biochemical parameters in response to electroejaculation in adult and yearling anesthetized pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) males. Reproduction in Domestic Animals 47, 308-312.

Fumagalli F, Damián JP, Ungerfeld R (2015) Vocalizations during electroejaculation in anaesthetized adult and young pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) males. Reproduction in Domestic Animals 50, 321-326.

García AJ, Landete-Castillejos T, Garde JJ, Gallego L (2002) Reproductive seasonality in female Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). Theriogenology 58, 1553-1562.

Garde JJ, Martínez-Pastor F, Gomendio M, Malo AF, Soler AJ, Fernández-Santos MR, Estes MC, García AJ, Anel L, Roldán ERS (2006) The application of reproductive technologies to natural populations of red deer. Reproduction in domestic animals 41, 93-102.

Geist V (1998) *Deer of the World. Their Evolution, Behavior, and Ecology*. Stackpole Books, Pennsylvania, pp. 202-204.

GISD (Global Invasive Species Database) (2015) Species profile *Cervus elaphus*. Disponible en: <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=119>. Último acceso: 17 de diciembre de 2019.

Gomendio M, Clutton-Brock TH, Albon SD, Guinness FE, Simpson MJ (1990) Mammalian sex ratios and variation in costs of rearing sons and daughters. *Nature* 343, 261-263.

González S, Jackson JJ, Merino ML (2016) *Ozotoceros bezoarticus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T15803A22160030. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T15803A22160030.en>. Último acceso: 17 de diciembre de 2019.

Granquist SM, Thorhallsdottir AG, Sigurjonsdottir H (2012) The effect of stallions on social interactions in domestic and semi feral harems. *Applied Animal Behaviour Science* 141, 49-56.

Greenberg-Cohen D, Alkon PU, Yom-Tov Y (1994) A linear dominance hierarchy in female Nubian ibex. *Ethology* 98, 210-220.

Hirovani A (1994) Dominance rank, copulatory behaviour and estimated reproductive success in male reindeer. *Animal Behaviour* 48, 929-936.

Hurnik JF, Lewis NJ, Taylor A, Pinheiro-Machado LC (1995) Social hierarchy. En: Farm Animal Behaviour. Laboratory Manual. University of Guelph, Guelph, pp. 79-89.

Ingrand S (2000) Feeding behaviour, intake and performance in beef cattle managed in groups. *Productions Animales* 13, 151-163.

Jackson JE, Langguth A (1987) Ecology and status of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Argentinean pampas and Uruguay. En: Wemmer C (Ed.) *Biology and management of the Cervidae*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, pp. 402-409.

Jennings DJ, Boys RJ, Gammell MP (2017) Investigating variation in third-party intervention behavior during a fallow deer (*Dama dama*) rut. *Behavioral Ecology* 28, 288-293.

Jennings DJ, Boys RJ, Gammell MP (2018) Suffering third-party intervention during fighting is associated with reduced mating success in the fallow deer. *Animal Behaviour* 139, 1-8.

Jennings DJ, Carlin CM, Gammell MP (2009) A winner effect supports third-party intervention behaviour during fallow deer, *Dama dama*, fights. *Animal Behaviour* 77, 343-348.

Jennings DJ, Carlin CM, Hayden TJ, Gammel MP (2010) Investment in fighting in relation to body condition, age and dominance rank in the male fallow deer (*Dama dama*). *Animal Behaviour* 79, 1293-1300.

Jennings DJ, Carlin CM, Hayden TJ, Gammell MP (2011) Third-party intervention behaviour during fallow deer fights: the role of dominance, age, fighting and body size. *Animal Behaviour* 81, 1217-1222.

Jørgensen GHM, Andersen IL, Bøe KE (2007) Feed intake and social interactions in dairy goats—The effects of feeding space and type of roughage. *Applied Animal Behaviour Science* 107, 239-251.

Kojola I (1997) Social status and physical condition of mother and sex ratio of offspring in cervids. *Applied Animal Behaviour Science* 51, 267-274.

Komers PE, Pélabon C, Stenström D (1997) Age at first reproduction in male fallow deer: age-specific versus dominance-specific behaviors. *Behavioral Ecology* 8, 456-462.

Kondo S, Hurnik JF (1990) Stabilization of social hierarchy in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* 27, 287-297.

Kruuk LEB, Slate J, Pemberton JM, Brotherstone S, Guinness F, Clutton-Brock T (2002) Antler size in red deer: heritability and selection but no evolution. *Evolution* 56, 1683-1695.

Landete-Castillejos T, Ceacero F, García AJ, Estevez JA, Gallego L (2010) Direct versus indirect effects of social rank, maternal weight, body condition and age on milk production in Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). *Journal of Dairy Research* 77, 77-84.

Landete-Castillejos T, García A, Lopez-Serrano FR, Gallego L (2005) Maternal quality and differences in milk production and composition for male and female Iberian red deer calves (*Cervus elaphus hispanicus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 57, 267-274.

Lincoln GA (1992) Biology of seasonal breeding in deer. En: Brown RD (Ed.) *The biology of deer*. Springer, New York, pp. 565-574.

Lincoln GA, Guinness FE (1973) The sexual significance of the rut in red deer. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 19, 475.

Lincoln GA, Guinness F, Short RV (1972) The way in which Testosterone controls the social and sexual behavior of the red deer stag (*Cervus elaphus*). *Hormones and Behavior* 3, 375-396.

Lovari S, Lorenzini, R, Masseti M, Pereladova O, Carden RF, Brook SM, Mattioli S (2018) *Cervus elaphus*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2018* (versión errata publicada en 2019). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-.RLTS.T55997072A142404453.en>. Último acceso: 17 de diciembre de 2019.

Lowe S, Browne M, Boudjelas S, Poorter M (2004) 100 of the world's Worst Invasive Alien Species. A selection from the global invasive species database. Disponible en: <http://issg.org/booklet.pdf>. Último acceso: 16 de agosto de 2019.

Malo AF, Roldan ER, Garde J, Soler AJ, Gomendio M (2005) Antlers honestly advertise sperm production and quality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 149-157.

Malo AF, Roldan ERS, Garde JJ, Soler AJ, Vicente J, Gortazar C, Gomendio M, (2009) What does testosterone do to red deer males? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276, 971-980.

Matsuzawa Y, Hagiya K (1991) Relationship between feeding behavior and social dominance in a small herd of goats. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture, Ibaraki University, Ami*, 1-6.

Mattiangeli V, Mattiello S, Verga M (1999) The fighting technique of male fallow deer (*Dama dama*): an analysis of agonistic interactions during the rut. *Journal of Zoology* 249, 339-346.

McElligott AG, Gammell MP, Harty HC, Pains DR, Murphy DT, Walsh JT, Hayden TJ (2001) Sexual size dimorphism in fallow deer (*Dama dama*): do larger, heavier males gain greater mating success? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49, 266-272.

McElligott AG, Mattiangeli V, Mattiello S, Verga M, Reynolds CA, Hayden TJ (1998) Fighting tactics of fallow bucks (*Dama dama*, *Cervidae*): Reducing the risk of serious conflicts. *Ethology* 104, 789-803.

Meikle DB, Drickamer LC, Vessey SH, Rosenthal TL, Fitzgerald KS (1993) Maternal dominance rank and secondary sex ratio in domestic swine. *Animal Behaviour* 46, 79-85.

Meng X, Cody N, Gong B, Xiang L (2012) Stable fighting strategies to maintain social ranks in captive male Alpine musk deer (*Moschus sifanicus*). *Animal Science Journal* 83, 617-622.

Miranda-de la Lama GC, Mattiello S (2010) The importance of social behaviour for goat welfare in livestock farming (review). *Small Ruminant Research* 90, 1-10.

Morales-Piñeyrúa JT, Ciappesoni G, Ungerfeld R (2014) Social rank and reproductive performance of pampas deer females (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus, 1758). *Behavioural processes* 105, 49-52.

Morales-Piñeyrúa JT, Ungerfeld R (2012) Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) court-ship and mating behavior. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54, 60.

O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, McLachlan RI (2006) Endocrine regulation of spermatogenesis. En: Neill JD (Ed.) *Knobil and Neill's physiology of*

reproduction. Vol 1. Tercera edición. Elsevier Academic Press, Missouri, pp. 1017-1069.

Oswald M, Erwin J (1976) Control of intragroup aggression by male pigtail monkeys (*Macaca nemestrina*). *Nature* 26, 643-645.

Ozoga JJ (1972) Aggressive behavior of white-tailed deer at winter cuttings. *The Journal of Wildlife Management* 861-868.

Pallante V, Stanyon R, Palagi E (2016) Agonistic support towards victims buffers aggression in geladas (*Theropithecus gelada*). *Behaviour* 153, 1217-1243.

Parker GA (1990) Sperm competition games: sneaks and extra-pair copulations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 242, 127-133.

Parker GA (1998) Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards a theory base, En: Birkhead TR, Møller AP (Eds.) *Sperm Competition and sexual selection*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 3-54.

Patt A, Gyax L, Wechsler B, Hillmann E, Palme R, Keil NM (2012) The introduction of individual goats into small established groups has serious negative effects on the introduced goat but not on resident goats. *Applied Animal Behaviour Science* 138, 47-59.

Pérez W, Vazquez N, Ungerfeld R (2013) Gross anatomy of the male genital organs of the pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758). *Anatomical Science International* 88, 123-129.

Plusquellec P, Bouissou MF (2001) Behavioural characteristics of two dairy breeds of cows selected (Herens) or not (Brune des Alpes) for fighting and dominance ability. *Applied Animal Behaviour Science* 72, 1-21.

Preston BT, Stevenson IR, Pemberton JM, Coltman DW, Wilson K (2003) Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270, 633-640.

Prud'hon M, Cordesse R, de-Rouville S, Thimonier J (1993) Some facts about South American camelids. *Productions Animales* 6, 5-15.

Pusey AE, Packer C, 1997. The ecology of relationships. En: Krebs JR, Davies NB (Eds.) *Behavioral Ecology. An evolutionary approach*. Cuarta Edición. Blackwell Science Ltd, Oxford, pp. 254-283

Putman R, Flueck WT (2011) Intraspecific variation in biology and ecology of deer: magnitude and causation. *Animal Production Science* 51, 277-291.

Raihani NJ, Thornton A, Bshary R (2012) Punishment and cooperation in nature. *Trends in Ecology & Evolution* 27, 288-295.

Roche JR, Lee JM, Berry DP (2006) Pre-conception energy balance and secondary sex ratio—partial support for the Trivers-Willard hypothesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 2119-2125.

Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet A, Toledano-Díaz A, Pulido-Pastor A, López-Sebastián A (2007) Social dominance and breeding activity in Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) maintained in captivity. *Reproduction, Fertility and Development* 19, 436-442.

Šárová R, Špinka M, Stěhulová I, Ceacero F, Šimečková M, Kotrba R (2013) Pay respect to the elders: age, more than body mass, determines dominance in female beef cattle. *Animal Behaviour* 86, 1315-1323.

Sapolsky RM (2005) The influence of social hierarchy on primate health. *Science* 308, 648-652.

Schirmann K, Chapinal N, Weary DM, Heuwieser W, Von Keyserlingk MAG (2011) Short-term effects of regrouping on behavior of prepartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94, 2312-2319.

Scott IC, Asher GW, Archer JA, Littlejohn RP (2008) The effect of conception date on gestation length of red deer (*Cervus elaphus*) *Animal Reproduction Science* 109, 206-217.

Sherwin CM, Johnson KG (1987) The influence of social factors on the use of shade by sheep. *Applied Animal Behaviour Science* 18, 143-155.

Shipka MP, Rowell JE (2011) Gestation length in farmed reindeer. *Reproduction in Domestic Ruminants VII*, 457.

Semeñiuk MB, Merino ML (2015) Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) social organization in semiarid grasslands of San Luis, Argentina. *Mammalia* 79, 131-138.

Silk JB (1983) Local resource competition and facultative adjustment of sex ratios in relation to competitive abilities. *American Naturalist* 121, 56-66.

Singh M, Boomsma JJ (2015) Policing and punishment across the domains of social evolution. *Oikos* 124, 971-982.

Sontakke SD (2018) Monitoring and controlling ovarian activities in wild ungulates. *Theriogenology* 109, 31-41.

Soutullo A, Clavijo C, Martínez-Lanfranco JA (2013) Especies prioritarias para la conservación en Uruguay: Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares. Sistema Nacional de Áreas Protegidas/Dirección Nacional de Medio Ambiente/Ministerio de Vivienda Desarrollo Territorial y Medio Ambiente/Dirección de Ciencia y Tecnología/Ministerio de Educación y Cultura. Montevideo. 222p.

Spratt KS, Spratt JS, Bauman JE, Chandler CR (2018) Behavioral and endocrine correlates of dominance in captive female Jackson's hartebeest (*Alcelaphus buselaphus*). *Zoo Biology* 38, 157-166.

Stockley P, Bro-Jørgensen J (2011) Female competition and its evolutionary consequences in mammals. *Biological Reviews* 86, 341-366.

Taillon J, Côté SD (2007) Social rank and winter forage quality affect aggressiveness in white-tailed deer fawns. *Animal Behaviour* 74, 265-275.

Thouless CR (1990) Feeding competition between grazing red deer hinds. *Animal Behaviour* 40, 105-111.

Tölü C, Savaş T (2007) A brief report on intra-species aggressive biting in a goat herd. *Applied Animal Behaviour Science* 102, 124-129.

Townsend TW, Bailey ED (1981) Effects of age, sex and weight on social rank in penned white-tailed deer. *American Midland Naturalist* 106, 92-101.

Trivers RL, Willard DE (1973) Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179, 90-92.

Ungerfeld R (2015) Reproducción en los cérvidos: una revisión con énfasis en el venado de campo (*Ozotoceros bezoarticus*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 39, 66-76.

Ungerfeld R, Bielli A, González-Pensado SX, Villagrán M, González-Sierra UT (2008b) Antler size and weight in a herd of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*). *Mammalian Biology* 6, 478-481.

Ungerfeld R, Cajarville C, Rosas MI, Repetto JL (2014) Time budget differences of high-and low-social rank grazing dairy cows. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 57, 122-127.

Ungerfeld R, Correa O (2007) Social dominance of female dairy goats influences the dynamics of gastrointestinal parasite eggs. *Applied Animal Behaviour Science* 105, 249-253.

Ungerfeld R, Freitas-de-Melo A (2014) Pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) male-female agonistic behavior toward high and low social ranked females. *Acta Ethologica* 17, 167-171.

Ungerfeld R, González-Pensado SP (2008) Social rank affects reproductive development in male lambs. *Animal Reproduction Science* 109, 161-171.

Ungerfeld R, González-Sierra UT, Bielli A (2008c) Seasonal antler cycle in a herd of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in Uruguay. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* 73, 388-391.

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

Ungerfeld R, González-Pensado S, Dago AL, Vilariño M, Menchaca A (2007) Social dominance of female dairy goats and response to oestrous synchronisation and superovulatory treatments. *Applied Animal Behaviour Science* 105, 115-121.

Ungerfeld R, González-Pensado SX, Villagrán M, Bielli A, Rossini C, Morales J, Pérez W, Damián JP (2011) *Biología reproductiva del venado de campo (Ozotoceros bezoarticus)*. Ediciones Universitarias, Montevideo.

Ungerfeld R, Villagrán M, Gil-Laureiro J, Sestelo A, Beracochea F, Fumagalli F, Bielli A (2019) Reproductive seasonal patterns of adult and young pampas deer stags (*Ozotoceros bezoarticus*). Enviado a publicar en *Zoo Biology*.

Vahed K, Parker DJ (2012) The evolution of large testes: sperm competition or male mating rate? *Ethology* 118, 107-117.

Veiberg V, Loe LEL, Mysterud A, Langvatn R, Stenseth, Stenseth NC (2004) Social rank, feeding and winter weight loss in red deer: any evidence of interference competition? *Oecologia* 138, 135-142.

von Rohr CR, Koski SE, Burkart JM, Caws C, Fraser ON, Ziltener A, Van Schaik CP (2012) Impartial third-party interventions in captive chimpanzees: a reflection of community concern. *PLoS One* 7, e32494.

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

Willisch CS, Biebach I, Koller U, Bucher T, Marreros N, Ryser-Degiorgis MP, Keller LF, Neuhaus P (2012) Male reproductive pattern in a polygynous ungulate with a slow life-history: the role of age, social status and alternative mating tactics. *Evolutionary Ecology* 26, 187-206.

Zine MJ, Krausman PR (2000) Behavior of captive mountain sheep in a Mojave Desert environment. *The Southwestern Naturalist* 184-195.

8. Anexos

Publicación I

Villagrán M, Freitas de Melo A, Bartoš L, Ungerfeld R. (2020) Aggressive interactions among female, semi-captive pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) increase within the hierarchy and after short-term removal of the male. *Aggressive Behavior* 46, 181–187.

Publicación II

Villagrán M, Beracochea F, Bartoš L, Ungerfeld R (2018) Hierarchical status and body traits and reproductive characteristics of male pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) maintained in all-male groups. *Applied Animal Behaviour Science* 207, 116-122.

Publicación III

Villagrán M, Álvarez L, Ungerfeld R (2017) Social rank and reproductive performance in a herd of farmed red deer females (*Cervus elaphus*). *Animal Production Science* 58, 1642-1647.