

AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN
EN HEMBRAS DE UNGULADOS SILVESTRES
PROGRESS IN FEMALE REPRODUCTION RESEARCH ON WILD UNGULATES

JOSÉ LUIS RIVEROS FERNÁNDEZ

Universidad de Chile

Programa de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias

Pontificia Universidad Católica de Chile

Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal

Departamento de Ciencias Animales

Académicos tutores:

Cristian Bonacic Salas

Bessie Urquieta Mangiola

RESUMEN DEL ARTÍCULO	3
TÉRMINOS CLAVES:	3
INTRODUCCIÓN.....	4
ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA	5
ESTRATEGIA REPRODUCTIVA.....	5
METODOLOGÍAS DE CARACTERIZACIÓN DEL ESTADO REPRODUCTIVO	9
<i>Determinación de hormonas glicoproteicas</i>	<i>9</i>
<i>Determinación de esteroides en plasma sanguíneo</i>	<i>9</i>
<i>Detección de esteroides en heces y orina.....</i>	<i>10</i>
<i>Detección de esteroides en pelo.....</i>	<i>15</i>
<i>Ecografía.....</i>	<i>16</i>
NUEVAS TECNOLOGÍAS.	19
DISCUSIÓN.....	21
CONCLUSIONES.....	23
BIBLIOGRAFÍA	25

Resumen del artículo

El presente trabajo describe el estado actual y proyecciones, del estudio de la reproducción en hembras de ungulados silvestres. Inicialmente se caracteriza la estrategia reproductiva y su asociación con la disponibilidad de recursos alimenticios. Posteriormente, a través de estudios de caso tanto en cautiverio como en el medio natural, se ejemplifican por familia taxonómica, los principales avances del conocimiento reproductivo en hembras de ungulados silvestres.

Es así como se describen las principales herramientas utilizadas en el estudio de la fisiología y morfología reproductiva del ciclo sexual y gestación. Se aborda la determinación de hormonas y sus metabolitos tanto fecales como urinarios y la utilización del ultrasonido.

Finalmente se discute una nueva técnica diagnóstica de gestación y las principales aplicaciones del ultrasonido, caracterizando sus principales fortalezas y debilidades, concluyendo con las proyecciones del área, orientadas a dar fundamentos para el manejo reproductivo de especies silvestres con fines de conservación y/o productivos.

Términos claves:

Reproducción, ungulados silvestres, hembra, hormonas, ultrasonido.

Introducción

El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar el estado actual del conocimiento sobre la fisiología reproductiva de la hembra en ungulados silvestres.

Los ungulados son un importante grupo de mamíferos, perteneciente a la subclase eutheria o placentados. Esta subclase, tiene como característica principal poseer a lo menos un dedo como la estructura más distal del esqueleto apendicular. Se encuentra compuesta por dos ordenes artiodactyla y perissodactyla, 12 familias, 87 géneros y 208 especies (tabla 1) (1).

Desde un punto de vista reproductivo, su estrategia se caracteriza por estar relacionada con factores ambientales asociados a la cantidad y calidad del forraje, lo que se traduce en la existencia de temporadas de apareamientos y pariciones.

A continuación se describen a través estudios específicos por familia, características de la estrategia reproductiva de distintas especies de ungulados silvestres. De la misma forma, posteriormente serán descritas las principales metodologías de estudio de la fisiología reproductiva. De esta manera se abordan técnicas de estudio invasivo como las hormonas plasmáticas, y no invasivas como la determinación de metabolitos hormonales de esteroides en orina y fecas, así como el uso y aplicación de la ecografía. En este ámbito se presentan las principales líneas de investigación, llevadas a cabo en ungulados silvestres, tanto en cautiverio como en su medio natural.

Finalmente se discutirá el estado actual de conocimiento por familia de ungulados, así como las ventajas y debilidades de cada sistema de estudio descrito, caracterizándose el grado de avance en el área de manejo reproductivo biotecnológico, orientado principalmente a incrementar al manejo de especies en cautiverio.

Estado actual del problema

Estrategia reproductiva

Al igual que muchas especies de mamíferos, los ungulados se han visto amenazados por la destrucción del hábitat. Dentro de estas especies, algunas poseen características fisiológicas (como alta tolerancia al estrés calórico y/o resistencia a patógenos endémicos específicos) y morfológicas (como pezuñas resistentes, gran superficie de piel y largos apéndices que les permiten irradiar calor o evitar insolación mediante gruesas cubiertas pilosas) logrando estar particularmente bien adaptadas a sus hábitat (2).

Los ungulados sincronizan su reproducción anual con los ciclos estacionales, relacionados con la calidad y cantidad de forraje disponible. Sin embargo dentro de cada estación las condiciones del forraje varían, frente a lo cual son capaces de responder sólo parcialmente, siendo la compensación conductual la táctica más importante para lidiar con las demandas energéticas adicionales de la reproducción (3).

En el caso de la familia *cervidae*, estudios realizados en ciervo blanco (*C. e. canadensis*) han demostrado como modificaciones en la actividad y la conducta de forrajeo durante la gestación y la lactancia permiten satisfacer sus cambios en los requerimientos nutricionales. En la gestación tardía, la reducción en la capacidad ruminal consecuencia del acelerado desarrollo fetal, puede condicionar un acortamiento en la duración de los eventos de alimentación y un incremento en la frecuencia de los mismos (4). En estas especies al ser transportadas desde zonas templadas, hacia zonas más extremas con estaciones del año claramente definidas, manifiestan cambios drásticos hacia una reproducción estacional, orientada a sustentar la reproducción en condiciones ambientales extremas (5). En las zonas templadas presentan su temporada de parición a comienzos del verano, momento en que las

condiciones ambientales facilitan la sobrevivencia y la obtención de altas tasas de crecimiento en las crías (6;7), debido a lo cual comúnmente conciben en otoño, gestando por un período prolongado de entre 220 y 260 días (8). Por el contrario en zonas tropicales la estación reproductiva no se encuentra bien definida, especialmente para *Mazama* en la cual la actividad se reanuda post parto, y en *M. americana* donde la reproducción no es estacional. En *O. bezoarticus* se describe estación reproductiva, con una concentración de partos en la primavera (9). En cautiverio el género *Blastocerus* no presenta aparentemente estación sexual, con un lapso interparto de 9 meses de duración, lo cual coincide con la gestación de una duración entre 8,5 y 9 meses de duración (10). En el caso de ciervo Rusa en cautiverio (*C. r. timorensis*), se ha descrito, una gestación e intervalo interparto de 249 y 366 días, respectivamente, independiente del sexo de la cría (11), y de las condiciones de cautiverio o libertad (12;13).

En el caso de la familia *bovidae*, varias especies del género *Gazella* se reproducen dos veces al año y en casos excepcionales durante todo el año. Las gacelas montañosas (*G. gazella*) presentan dos temporadas de parición en primavera y otoño (14) e incluso en cautiverio mantienen las mismas características (14). Sin embargo, se ha demostrado (15), que en la misma especie, junto a gacelas dorcas y gacelas (*G. g. farasani*) (15;16), con disponibilidad de alimento y agua, se reproducen durante todo el año. Determinándose el largo de la gestación en gacelas en aproximadamente 150 días (15;16;17;18).

En la familia *camelidae*, guanaco y vicuña, son considerados usualmente como reproductores estacionales en su hábitat natural, durante los meses más cálidos, húmedos y de mayor disponibilidad de forraje (19). En vicuñas silvestres, la estación reproductiva se reporta entre mediados de febrero y mediados de abril en el Parque Nacional Lauca (Altiplano chileno) (20)

y marzo – mayo en Pampa Galeras (Perú) (21). En el caso de guanacos silvestres, se ha descrito de diciembre a marzo, para la zona de Magallanes (Patagonia chilena) (22).

En la familia *equidae*, en asnos silvestres de Kalpitiya, se ha demostrado ausencia de estacionalidad reproductiva, con una temporada de parición distribuida a lo largo del año, con la excepción del mes de mayo (23). La gestación se describe por un período de alrededor de 340 días (23), la cual es aproximadamente un 20% más prolongada que otros rumiantes de tamaño similar (24). El largo de la gestación asegura que la cría alcance un avanzado estado de desarrollo al momento de nacer, permitiendo a las crías crecer rápidamente, si reciben una adecuada alimentación por parte de la hembra. Particularmente en los équidos se conoce que tienen la capacidad de doblar el peso de nacimiento al mes de vida (25), describiéndose usualmente el nacimiento de una cría y en casos excepcionales gestaciones dobles (26).

En la familia *tapiridae*, el tapir ha mostrado baja tasa reproductiva, con una gestación única de 13 meses de duración. Las hembras son capaces de gestar nuevamente dentro del mes postparto, siendo posible afirmar que en las mejores condiciones es posible esperar un parto cada 14 meses, en un hábitat con mínimas variaciones en relación con la disponibilidad de alimento. Por el contrario en hábitat áridos, el lapso interparto puede ser mayor. Los tapires sudamericanos muestran una tasa reproductiva menor a ciervos y pecaríes, con los cuales comparten un hábitat común (27).

En el caso de la familia *tayussuidae*, los estudios en pecarí se basan en *P. tajacu*, mantenidos en cautiverio y semi-cautiverio. Estos indican que carecen de estacionalidad marcada, lo cual está relacionado en condiciones silvestres con la cantidad de precipitaciones y la disponibilidad de alimentos (28). El período de gestación tiene una duración de 145 días en el

pecarí de collar y 159 días para el labiado (29). Las hembras de ambas especies pueden quedar gestantes durante el período postparto y en lactancia, lo cual reduce el lapso interparto (29).

En el caso de la familia *giraffidae*, en jirafas *G. camelopardalis*, se ha descrito reproducción anual, sin embargo cambios en la dieta, hábitat, y actividad pueden modificar el estado reproductivo (30). Adicionalmente se ha descrito que las jirafas pueden traslapar su reproducción, es así como las hembras pueden quedar gestantes durante el período de lactancia (30;31;32). Las variaciones en la calidad y cantidad del alimento pueden modificar el lapso de la gestación, en jirafas silvestres versus en cautiverio (33). Sin embargo en la mayoría de los mamíferos la duración de la gestación exhibe una variación claramente delimitada (34), donde los factores ambientales contribuyen sólo en una pequeña fracción de la variación en su duración (35). Cabe destacar que el estado reproductivo de la hembra jirafa, es difícil de evaluar debido a que la gestación no es detectable visualmente hasta estadios de gestación avanzada; más aun la duración de la gestación, así como la ciclicidad post parto han sido estimadas en base a estudios conductuales (32;30), describiéndose una gestación promedio de 448 días en condiciones silvestres y 446–457 en cautiverio (33;36).

De esta manera el lapso gestacional en jirafas, es similar al descrito en distintas especies de la familia *rhinocerotidae*: rinoceronte negro, *D. bicornis* (440–470 días; 37), rinoceronte blanco, *C. simum* (490–525 días: 38), rinoceronte de la india *R. unicornis* (480-490 días: 39), y mayor que la otra especie de la familia *giraffidae* el okapi, *O. johnstoni* (423–431 días: 40).

De esta manera diferentes estudios tanto en condiciones silvestres como en cautiverio, han permitido caracterizar la estrategia reproductiva de los ungulados silvestres, la cual presenta un grado variable de estacionalidad en relación a la variación en la disponibilidad de recursos tanto hídricos como alimenticios. En forma adicional como parte de esta estrategia se

describen gestaciones generalmente únicas y con un prolongado período de gestación. Sin embargo el grado de avance en el conocimiento de estos subórdenes ha sido parcial y difícil de abordar, principalmente por la naturaleza silvestre de los animales, lo cual ha determinado el desarrollo de técnicas que permitan caracterizar su fisiología reproductiva.

A continuación se describe el desarrollo y aplicación de las metodologías invasivas y no invasivas, utilizadas en ungulados silvestres.

Metodologías de caracterización del estado reproductivo

Determinación de hormonas glicoproteicas

La determinación de hormonas no esteroidales, como la luteinizante LH y la foliculo estimulante FSH, tienen una aplicación más limitada en estudios de la fisiología reproductiva en especies silvestres. Debido principalmente a la característica pulsátil de su secreción, lo cual hace necesario una elevada frecuencia de muestreo sanguíneo, convirtiéndolo en inviable en muchas condiciones experimentales o con especies de difícil manipulación (41).

Determinación de esteroides en plasma sanguíneo

El análisis de las concentraciones plasmáticas de progesterona permite establecer de una forma objetiva y precisa el comienzo y finalización del periodo de actividad ovulatoria cíclica, así como las características y duración del ciclo sexual. Este método de estudio ha sido utilizado para el estudio de las características reproductivas en el ciervo rojo (42), corzo (43;44;45), ciervo de cola blanca (46;47;48); gamo (49;50) caribú (51) y muflón (52;53) y ciervo rojo(54).

La presencia de niveles basales de progesterona durante los periodos de anestro y durante la fase folicular del ciclo sexual, así como los niveles elevados durante la fase luteal del ciclo, permite la realización de estudios de gran precisión sobre el comienzo de la pubertad e

intervalo entre el parto y el restablecimiento de la actividad ovulatoria cíclica (55). Igualmente, la determinación de las concentraciones plasmáticas de progesterona permite estudiar las variaciones de secreción como reflejo de una secreción ovárica – placentaria durante la gestación, así como las características de secreción alrededor del parto (55).

En cérvidos, la progesterona, además de secretarse por el ovario y la placenta, también tiene un aporte desde la glándula adrenal. Una estimulación de la glándula adrenal, puede conducir a un significativo incremento de las concentraciones de progesterona en plasma, no obstante esta característica no ha sido observada en otras especies de ungulados. Este hecho debe ser considerado a la hora de la interpretación de los resultados en aquellos animales no adaptados al manejo y que sufren un fuerte estrés durante la manipulación. Las concentraciones de progesterona plasmática se determinan por enzimoimmunoanálisis (ELISA) o bien, y más frecuentemente, por técnicas de radioimmunoanálisis (RIA) (56).

Detección de esteroides en heces y orina.

Síntesis y metabolización esteroides tabla nº2

La dificultad en el manejo que supone el muestreo periódico sanguíneo para la realización de evaluaciones hormonales en el plasma de los ungulados silvestres, ha determinado el desarrollo de técnicas para la determinación de esteroides urinarios y fecales como método no invasivo para valorar el estado reproductivo (57;58). Las técnicas para la determinación de esteroides en heces y orina mediante enzimoimmunoanálisis y radioimmunoanálisis se basan en las vías de metabolización de las hormonas esteroideas y su excreción vía renal y/o hepática, encontrándose en las excretas como metabolitos específicos e identificables de sus respectivas hormonas originales (41). Péptidos, proteínas y hormonas glicoproteicas son componentes elementales en los diferentes procesos reproductivos, y aunque también son excretados como

metabolitos reconocibles, la especificidad en la síntesis proteica entre las diferentes especies limita una aplicación con los actuales métodos de análisis (41). No obstante, en algunos ensayos se han determinado restos bioactivos de hormonas proteicas, tales como la LH y la FSH, sin embargo la complejidad del método hacen limitado su uso en prácticas evaluaciones de rutina (41). De este modo, la mayoría de los trabajos centran sus objetivos en la determinación analítica de los metabolitos de las hormonas esteroides. Generalmente, y en la mayoría de las especies silvestres, la estrona es el mayor metabolito del estradiol (59;60;61). Anticuerpos que detectan estradiol y la estrona han sido utilizados en el desarrollo de los iniciales análisis en orina. Los estudios iniciales referían un análisis relativo a “estrógenos totales analizados”, requiriéndose una previa hidrolización de la muestra antes del análisis (62), ya que la mayoría de los estrógenos presentes en la orina están de forma conjugada, presentándose como complejas moléculas conteniendo sulfato o glucurónido. En contraste con los primeros métodos analíticos utilizados para la monitorización de la producción de estrógenos, los metabolitos urinarios de progesterona habitualmente son analizados en su forma conjugada. Los procesos de hidrólisis y extracción pueden, de este modo, suprimirse mediante el empleo de anticuerpos específicos para el pregnandirol-3-glucuronido, el cual es un metabolito urinario de la progesterona (63). La posibilidad de detección de este metabolito junto a otras moléculas similares, resulta de inestimable valor para el estudio de la función luteal en diferentes mamíferos silvestres. Aunque la determinación de pregnandirol-3-glucuronido ha sido utilizada para el estudio de la función ovárica de diferentes especies de artiodáctilos, su uso no es aplicable a la mayoría de los perisodáctilos en los que la excreción de este metabolito es escasa o nula (41;63). La mayor disponibilidad de anticuerpos para las formas conjugadas de los esteroides ha representado el mayor avance en la analítica de los metabolitos de esteroides. Esto ha permitido una simplificación del método así como un

incremento de la sensibilidad del análisis, favoreciendo un mayor número de posibilidades para su aplicación en las determinaciones urinarias. El ciclo ovárico está caracterizado por un incremento gradual de los conjugados de la estrona, alcanzando los máximos niveles justo antes de la ovulación. Los niveles de pregnandiol-3-glucuronido comienzan a incrementarse antes de la disminución de los conjugados de la estrona, manteniéndose elevados como reflejo de la formación de un cuerpo lúteo activo. Esta característica evolución de los metabolitos urinarios permiten la monitorización de la función ovárica en términos de ovulación y de función luteal, pudiéndose utilizar para evaluar el estado normal de la actividad ovárica (41). También es posible estudiar la función luteal y la gestación mediante anticuerpos con amplias reacciones cruzadas con un amplio rango de metabolitos de la progesterona. La característica solubilidad en agua de los metabolitos de los esteroides unido a su presencia en altas concentraciones en la orina, lo que permite una gran dilución de la muestra para su análisis, facilita la realización de un amplio número de técnicas, tales como ELISA, Inmunofluorescencia y RIA (41).

La determinación de los patrones de excreción de conjugados urinarios de la estrona así como del pregnandiol-3 α -glucurónido mediante radioinmunoanálisis ha permitido establecer, de forma precisa, la actividad reproductiva de diferentes especies, tales como el oryx, bongo, okapi, jirafa (64;65;31). La excreción urinaria pregnandiol-3 α -glucurónido refleja la actividad ovárica cíclica en el ciervo de Eld, coincidiendo los niveles de este metabolito en orina con las concentraciones de progesterona plasmática. El incremento marcado de este metabolito indica la existencia de una gestación. Además, la simultánea monitorización de los conjugados de la estrona parece ser útil en la estimación del estado de gestación y la predicción del parto. No

obstante, aunque cantidades detectables de conjugados de estrona pueden apreciarse en la orina de la cierva de Eld, no se detecta un patrón cíclico de excreción de estos conjugados (57).

La determinación de esteroides en orina supone la dificultad de la toma de muestra. Mediante la administración en sangre de hormonas esteroides marcadas radioactivamente se ha observado que la excreción en heces es tan importante como en orina (41). De este modo, se ha utilizado el análisis de hormonas esteroides fecales como una alternativa del análisis de la función ovárica y de la gestación. Han sido descritos diversos estudios en diferentes especies silvestres tales como el buey almizclero (64), caribú (65). Por otro lado, diferentes experiencias que comparan los valores de esteroides fecales y plasmáticos durante el ciclo indican la existencia de un retraso de alrededor de 2 horas en las concentraciones fecales respecto a las plasmáticas. En estudios de gestación, los metabolitos de progesterona fecales no decrecen después del parto a niveles basales hasta pasados 3-4 días (40;66).

Sin embargo es necesario caracterizarlos en función de las diferencias en la fisiología y metabolismo de cada especie animal (67). El análisis de esteroides fecales, ha logrado precisar información sobre la actividad sexual y la conducta de apareamiento en la zebra de Grevy, *E. grevyi*, (68) y en la gacela Mohor, *G. dama* (69;70), al igual que ha permitido describir cambios endocrinos durante la gestación en el rinoceronte blanco, *C. simum* (38) y en forma adicional el análisis de fecas ha sido ampliamente utilizado para describir el ciclo ovárico en una serie de ungulados, por ejemplo, rinoceronte negro, *D. bicornis* (37), okapi *O. johnstoni* (71;40;72), y oryx cimitarra, *O. dammah* (73;74), vicuña (75). Por otro lado, el análisis fecal, ha permitido diagnosticar en jirafa, estados de gestación aproximadamente a las 2 semanas post concepción, analizando solamente una muestra de fecas (36). La concentración del metabolito pregnone en jirafa se incrementa regularmente a medida que la gestación progresa,

lo cual podría estar relacionado con la contribución incremental de la placenta en la esteroidogénesis, tal como ocurre en otros mamíferos (76). Posterior al parto la concentración fecal de pregnone cae y permanece baja hasta que el ciclo ovárico se reanuda (36).

En especies en peligro como el rinoceronte de la india, se ha descrito el ciclo estral y la gestación, a través de la determinación de metabolitos de esteroides fecales: pregnone, estrógeno, y androstano. Las muestras fecales presentan como ventajas adicionales en esta especie, permitir el diagnóstico de gestación desde el tercer mes, mientras los esteroides urinarios sólo la detectan a contar de la mitad de la gestación (62;77). Otro beneficio adicional entre el análisis de esteroides urinarios y fecales, se basa en que adicionalmente a los ensayos de pregnanediol y estrógeno, usados también en análisis urinarios, en fecas se ha establecido además la determinación de los metabolitos 17-oxo-andostanos y 20-oxo-pregnona, como indicadores de gestación. Las concentraciones basales de estrógenos fecales descritos durante la gestación en el rinoceronte de la india son concordantes con las bajas concentraciones medidas en muestras urinarias (62). Las concentraciones del esteroide fecal pregnone producido por el cuerpo lúteo y la unidad feto placentaria, detectadas en rinoceronte de la india, concuerdan con una serie de reportes medidos en metabolitos fecales de progesterona en rinocerontes africanos (63;78;79; 37;80;81;82;83;84;85;38) y en rinoceronte de Sumatra (86). Adicionalmente, la presencia de una serie de metabolitos progesterona inmunoreactivos son comparables con los hallazgos en otras especies de mamíferos (66;87). La determinación de concentraciones de metabolitos de progesterona en el rinoceronte de la india, demuestran que la producción del metabolito por parte de la unidad feto placentaria permite el diagnóstico de gestación tal como en otras especies de rinocerontes (63;78;79;37;82;83;84;85;86;38). En el caso del rinoceronte blanco, un estudio reciente en cautiverio, con el uso combinado de

ultrasonido y metabolitos fecales de progesterona, fue capaz de describir ciclos ováricos anovulatorios, ciclos ovulatorios no gestacionales y ciclos gestacionales (86); con una duración de 73–78 días y estructura luteal persistente por 42–48 días (62;63;77;78;37;82;84;85). La duración de la gestación promedio descrita en rinoceronte blanco es de 15 meses y los valores fecales de 20-oxo-P durante el 4º y 5º mes de gestación son considerablemente más altos que los descritos durante la fase luteal (83). Hodges y Green (77), también reportaron altas concentraciones urinarias de pregnandiol durante la segunda mitad de la gestación en rinoceronte blanco.

Las concentraciones de estrógenos fecales han sido monitoreadas durante la gestación y el período post parto, mediante enzimo inmuno ensayos (EIE) en cautiverio en el antílope sable y el tapir, los cuales muestran un incremento regular en las concentraciones de estrógenos a lo largo de la gestación, con los máximos valores justo antes del parto y un rápido descenso a valores basales en el post parto. En contraste las concentraciones de estrógenos de la zebra de Grevy aumentan en la mitad de la gestación y declinan durante los estadios finales de la misma. La determinación de la concentración de estrógenos fecales a través de EIA, entrega un método práctico para el diagnóstico y confirmación de gestación, en animales de zoológico, sin embargo debe ser utilizada en forma cautelosa particularmente en aquellas especies donde los perfiles hormonales, no se encuentran claramente establecidos (88).

Detección de esteroides en pelo

En bovinos, se han establecido protocolos para la determinación de progesterona, testosterona y estradiol en el pelo (89). Esto hace pensar en la posibilidad de la aplicación de estas técnicas como procedimientos de estudio no invasivos en poblaciones silvestres. Sin embargo, las potenciales expectativas de la detección de esteroides en pelo, para la monitorización de la

actividad reproductiva, están limitadas por la falta y complejidad de las metodologías de extracción de hormonas y obtención de anticuerpos específicos, debido a lo cual actualmente no se contempla como una técnica rutinaria de estudio. Además, la permanencia en el pelo de esteroides sexuales durante largos periodos de tiempo, incluso meses y años (89), limitan aún más sus posibles aplicaciones para estudiar los diferentes parámetros de la actividad reproductiva (periodos de actividad ovulatoria cíclica y anestro estacional y postparto). De este modo, es necesaria una mayor información sobre la relación entre los ciclos anuales de muda del pelo y el ciclo anual de actividad reproductiva (90).

Ecografía

La ecografía puede definirse como un medio diagnóstico médico basado en las imágenes obtenidas mediante el procesamiento de los ecos reflejados por las estructuras corporales, gracias a la acción de pulsos de ondas ultrasónicas. Constituye un medio no invasivo de diagnóstico de gestación, predicción de fecha de parto e identificación de las condiciones prenatales. Los programas de reproducción con el uso de ultrasonido, han permitido precisar la respuesta a tratamientos superovulatorios, así como detectar estados tempranos de gestación, desarrollo fetal y el manejo alimenticio de animales gestantes (91).

La ecografía, se basa en el uso del ultrasonido, el cual puede definirse como un tren de ondas mecánicas, generalmente longitudinales, originadas por la vibración de un cuerpo elástico y propagadas por un medio material y cuya frecuencia supera la del sonido audible por el género humano: 20.000 ciclos/s (20 KHz) aproximadamente. Es así como los equipos de ultrasonido utilizan la técnica del eco pulsado, que consiste en pulsar un cristal y enviar paquetes de energía dentro del paciente. Un pequeño porcentaje es reflejado en las diferentes interfases y

llega al transductor el cual la traduce a un pequeño voltaje. Los ultrasonidos, al atravesar las diferentes estructuras devuelven "ecos" de diferentes amplitudes según sean los órganos atravesados, generando imágenes que permiten analizar su morfología y/o fisiología. (92)

La introducción de la ultrasonografía en la medicina reproductiva a fines de la década del 50 (93) y fue aplicada por primera vez, como herramienta diagnóstica en animales de zoológico en 1978 (94). Desde entonces la utilización de técnicas sonográficas en programas de manejo reproductivo en especies silvestres ha sido esporádico (95), principalmente debido a que su aplicación en animales silvestres presenta una serie de dificultades originadas por la gran diversidad de tamaños, posición de examen, y morfología y fisiología de cada especie (96). Sin embargo, el uso de nuevos componentes desarrollados incluidos la modificación de la configuración de los sistemas de ultrasonido comerciales, al igual que nuevas metodologías de examen, ha permitido proveer de una herramienta de gran utilidad para el progreso de la reproducción asistida en especies amenazadas. Los exámenes con el uso de ultrasonido han permitido la caracterización detallada de la duración del ciclo sexual de la hembra, incluidos los cambios estacionales y eventos como la formación de folículos y/o del cuerpo lúteo. La principal limitante a los exámenes repetidos con ultrasonido, en animales silvestres, es el riesgo de la inmovilización (física o química) o el tiempo necesario a invertir en el entrenamiento para que un animal logre aceptar el examen transrectal. El uso en conjunto de análisis endocrinos, particularmente no invasivos fecales y/o urinarios, permiten complementar y dar soporte a los hallazgos ultrasonográficos. Es así como en pecarí de collar, se ha caracterizado la gestación, a través de la determinación de esteroides y conjunto con el análisis ultrasonográfico. Los resultados obtenidos describen una concentración promedio de progesterona entre los días 11 y 140 de gestación, de 36-48 ng/ml y de estradiol 5 a 10 pg/ml,

los cuales se mantienen en dicha concentración hasta el día 90 de gestación luego de lo cual sufre un alza hasta 49,07 pg/ml (74). En el caso del ultrasonido, se ha aplicado sin dificultades, describiéndose una camada promedio de 1-3 crías en *T. pecari* y 1-4 crías en *P.tajacu* y *C.wagneri*, con un promedio para las tres especies de dos crías por camada (97).

Un campo muy importante de aplicación del ultrasonido, tiene relación con el monitoreo del estado reproductivo durante la implementación de programas anticonceptivos, los cuales han ido en aumento, debido al incremento de algunas especies en cautiverio. De esta manera cambios somomorfológicos durante los tratamientos anticonceptivos (disminución de la actividad ovárica): prevención de la implantación o posibles alteraciones patológicas, los cuales son correlacionados con análisis farmacocinéticos y hormonales, permiten evaluar la eficiencia y reversibilidad de los métodos aplicados (98).

Existe una serie de reportes exitosos en inseminación artificial y transferencia embrionaria en ungulados animales silvestres (99;100;101). Sin embargo, en la mayoría de las especies no domésticas, la inseminación no quirúrgica y los programas de transferencia embrionaria no han sido desarrollados exitosamente. La aplicación del ultrasonido ha proveído de información crucial sobre la anatomía de la hembra, momento de la ovulación y asistencia en el proceso de inseminación, permitiendo por ejemplo guiar el catéter en la profundidad del tracto genital para la correcta deposición del semen o de los embriones (102;103). El ultrasonido ha sido esencial para el desarrollo y aplicación de inseminación artificial en especies únicas de ungulados como el corzo, rinoceronte blanco y tapir Malayo (102;103), sin embargo la utilización de la técnicas se ha visto restringida en especies que no se encuentran relacionadas cercanamente con alguna especie doméstica, como es el caso del yak (104).

Nuevas tecnologías.

Es de conocimiento común que la biotecnología y las tecnologías de reproducción asistida, han sido exitosas en sus aplicaciones en ganadería, sin embargo en especies silvestres nativas o exóticas, ha tenido un grado de éxito limitado (101).

En cérvidos sudamericanos, específicamente en *M. gouazoubira*, se ha realizado en forma exitosa, la sincronización del ciclo folicular, mediante la utilización de dispositivos intravaginales con progestágenos (105). Lo anterior se ha realizado, como parte de tratamientos superovulatorios con PMSG, para posteriormente aplicar inseminación artificial (105). Esta sólo ha sido exitosa con la utilización de semen fresco vía vaginal y semen congelado vía intrauterina (105). La transferencia de embriones se ha desarrollado en ciervos principalmente en *C. elaphus* (106), sin embargo las proyecciones de transferir embriones entre especies aparece como una atractiva herramienta para el tratamiento de especies en peligro de extinción. Es así como se podrían transferir embriones desde *M. bororo*, en peligro de extinción, a *M. gouazoubira* el cérvido sudamericano más común, con un potencial de aumentar de una cría a 10 a 15 por año (105).

El oryx cimitarra (*O. dammah*), antílope africano de 130–180 Kg, que habita las zonas semiáridas del Sahara (106), ha sido protagonista de programas de conservación *ex situ*, orientados a conservar su diversidad genética, a través de la utilización de bancos de recursos genéticos (107). De esta manera la utilización de la inseminación artificial, se ha descrito en siete especies de antílopes: gacela de Speke *G. spekei* (108), springbok *A. marsupiales* (108), addax *A. nasomaculatus* (109), blackbuck *A. cervicapra* (110), antílope suni *N. m. zuluensis* (111), oryx *O. dammah* (112) y gacela Mhorr *G. d. mhorri* (113).

El uso del ultrasonido ha incrementado el conocimiento de la estructura y fisiología de la hembra en camélidos sudamericanos (CSA), sin embargo se ha concentrado en las especies domésticas. Actualmente se ha puesto particular atención a la dinámica folicular ovárica, maduración del oocito, fecundación y desarrollo embrionario *in vitro* e *in vivo*, orientando su aplicación a la preservación de las especies silvestres (guanacos, vicuñas) así como a las poblaciones silvestres de camélidos del viejo mundo (114). Por otro lado, en base a experiencias exitosas, se proyecta como otra alternativa, la transferencia de embriones entre sus distintas especies. Sin embargo, antes de la aplicación de estas tecnologías, aun quedan temas por desarrollar, como la preservación de oocitos y ovarios que podría ser de gran ayuda a la criopreservación de oocitos y embriones. El éxito de las técnicas de fertilización *in vitro*, en estas especies, debido a sus particularidades reproductivas, presenta grandes oportunidades para su desarrollo en otras especies exóticas. Se considera que algunas técnicas son muy simples de adaptar desde bovinos a otras especies, con modificaciones menores, por lo tanto la manipulación como la fertilización *in vitro*, con la utilización de espermatozoides epididimarios y la conservación *in vitro* en co-cultivos con células oviductales, parecen factibles de ser utilizadas en una serie de especies en el futuro cercano. Esto proveerá de una primera etapa de gran importancia, para el desarrollo de reproducción asistida en especies exóticas y amenazadas, permitiendo el movimiento de gametos entre los países (114).

Discusión

En base a los antecedentes descritos sobre la estación reproductiva, se observa que las condiciones climáticas menos extremas y nutricionales más equilibradas, permitirían que la estación sexual fuese menos evidente, con la aparición de estaciones reproductivas a lo largo del año. Sin embargo esto no sucede en grandes ungulados, donde la estación permanece, lo cual se encuentra también asociado a un mayor largo de gestación. Cabe destacar que algunas especies de ungulados, especialmente los que presentan largos períodos de gestación, son capaces de reiniciar su actividad reproductiva bajo el régimen de lactancia, permitiendo de esta manera acortar su lapso interparto.

En el caso de las metodologías de estudio descritas, la determinación de metabolitos esteroidales, mediante el análisis de fecas provee de un método alternativo para la evaluación de los estados reproductivos de animales no habituados al proceso de muestreo, sumado a un mayor grado de certeza en su obtención en comparación con las muestras urinarias (81). En grandes ungulados adicionalmente, la determinación de metabolitos de progesterona fecales permiten el diagnóstico de gestación, en forma más temprana que el análisis de pregnandiol urinarias (39).

De esta manera en base a los antecedentes, se describe que los metabolitos de progesterona son indicadores que reflejan la actividad luteal y placentaria a través de la funcionalidad del metabolismo de esteroides (39). Esto junto a la certeza en la toma de muestra en comparación con las urinarias, permite proyectar el análisis de esteroides fecales como una herramienta para los estudios reproductivos en ungulados silvestres.

Adicionalmente, durante el período de gestación se ha descrito una nueva técnica de diagnóstico, que podría ser complementaria a la medición de esteroides, la cual se basa en la

medición de glicoproteínas específicas de gestación, que tal como las reconocidas en las especies humana y equina (115). Es así como se ha revelado que también son producidas por la placenta de ungulados (116) y se ha denominado como glicoproteína bovina asociada a gestación (bovine pregnancy associated glycoproteins bPAGs) (115;116). Esta serie de glicoproteínas podría ser utilizado como un potencial marcador bioquímico de gestación en ungulados (116;117;118;119).

En el caso del ultrasonido, las principales dificultades de diagnóstico del tracto reproductivo, se han asociado a los métodos de sujeción, por lo cual se debería procurar que las técnicas no invasivas eviten los factores estresantes asociados a inmovilización física y química (anestesia) de animales silvestres.

Finalmente los programas de inseminación artificial, permitirían evitar el riesgo y altos costos del transporte de animales y optimizar el uso limitado de la infraestructura, permitiendo simultáneamente preservar la diversidad genética en extinción (109). Es por lo cual, se proyecta que los beneficios de la inseminación artificial y la transferencia embrionaria y fecundación *in vitro*, representan grandes perspectivas para la preservación de animales silvestres (111;113).

Conclusiones

De esta manera diferentes estudios en condiciones silvestres tanto como en cautiverio, hacen posible caracterizar la estrategia reproductiva de los ungulados silvestres, la cual presenta un grado variable de estacionalidad en relación a la variación en la disponibilidad de recursos tanto hídricos como alimenticios.

En forma adicional como parte de esta estrategia se describen gestaciones generalmente únicas y con un prolongado período de gestación. Sin embargo el grado de avance en el conocimiento de estos subórdenes ha sido parcial y difícil de abordar, principalmente por la naturaleza silvestre de los animales, lo cual ha determinado el desarrollo de técnicas principalmente no invasivas, que permitan caracterizar los distintos estados de la fisiología reproductiva de la hembra. El período de gestación descrito en ungulados silvestres, en comparación a otras taxas presenta una mayor duración y un menor tamaño de camada, lo cual obedecería a la estrategia de aseguramiento en la sobrevivencia de las crías.

Los métodos descritos para la caracterización de la fisiología reproductiva en ungulados silvestres, se orientan principalmente a métodos no invasivos, que hacen posible evaluar los cambios endocrinos asociados al ciclo folicular y gestación, a través de la determinación de los metabolitos urinarios y principalmente fecales.

Sin embargo esta metodología por sí sólo no es suficiente para caracterizar los cambios fisiológicos y especialmente morfológicos asociados a la gestación. Es en este punto donde ha cobrado gran importancia, la utilización del ultrasonido como herramienta de diagnóstico de gestación y caracterización de los distintos eventos asociados al manejo reproductivo de la biología reproductiva de ungulados silvestres.

De esta manera el uso y aplicaciones del ultrasonido, pese a que aun es limitado en especies silvestres, en comparación con medicina humana y veterinaria, se ha incrementado especialmente asociado a aplicaciones en planes de manejo reproductivo en cautiverio. Sin embargo sus principales dificultades se han visto asociadas, a la diversidad y falta de conocimiento de la fisiología y morfología de cada especie silvestre, sumado a necesidades de adaptación de las metodologías y equipos usados en las especies domésticas.

Finalmente el desarrollo de biotecnologías asociadas a la reproducción, como fecundación *in vitro*, transferencia de embriones *intra* e *inter* especies, criopreservación de oocitos y embriones, sumado a la aplicación de inseminación artificial con semen fresco y/o congelado, con grados de éxito incrementales, permiten proyectar a estas tecnologías como esenciales en el manejo de especies silvestres en cautiverio, ya sea con fines de conservación o productivos; lo cual sólo será posible con un mayor conocimiento de los distintos niveles de biología reproductiva de cada especie a incluir en un plan de manejo. Sin embargo el desarrollo de las técnicas de inseminación artificial no quirúrgica, transferencia embrionaria en especies no domésticas, requerirá el conocimiento anatómico y fisiológico más allá del que puede proveer el ultrasonido. Esta técnica, permite una aproximación básica para la exploración no invasiva de la anatomía y fisiología reproductiva en animales silvestres, constituyendo una herramienta practica, confiable y precisa, para el monitoreo y manejo del ciclo sexual, inseminación artificial, transferencia embrionaria y tratamiento anticonceptivos.

Bibliografía

1. Mac Donald, D. The new encyclopedia of mammals. Oxford University press. 2001; 455.
2. Solti, L., Crichton E.G., Loskutoff N.M., Cseh, S. Economical y ecological importance of indigenous livestock y the application of assisted reproduction to their preservation. *Theriogenology*. 2000; 53:149-162.
3. Gittleman, J.L., Thompson, S.D. Energy allocation in mammalian reproduction. *Am. Zool.* 1988; 28: 863–875.
4. Gedir, J.V., Hudson, R.J. Seasonal foraging behavioural compensation in reproductive wapiti hinds (*Cervus elaphus canadensis*). *Applied Animal Behaviour Science*. 2000; 67:137-150.
5. Lincoln, G.A. Seasonal breeding in deer. In: P.F. Fennessy and K.R. Drew (Editors), *Biology of Deer Production*. Bulletin No. 22, The Royal Society of New Zealand. 1985; 165-179.
6. Clutton-Brock, T.H., Guinness, F.E. and Albon, SD. *Red Deer. Behaviour and Ecology of Two Sexes*. University of Chicago Press, Chicago, IL. 1982.
7. Lincoln, G.A. Seasonal breeding in deer. In: P.F. Fennessy and K.R. Drew (Editors), *Biology of Deer Production*. Bulletin No. 22, The Royal Society of New Zealand. 1985; 165-179.
8. Asher, G.W., Fisher, M.W., Fennessy, P.F. Environmental constraints on reproductive performance of farmed deer. *Animal Reproduction Science*. 1996; 42: 35-44.

9. Jackson, J., Langgurth, A. Ecology y status of the pampas deer in the Argentinean pampas y Uruguay. In C.M. Wemmer ed., *Biology y Management of the Cervidae*. Washington, D.C., Smithsonian Institution Press, 1987; 402-409.
10. Müller, E., Duarte, J.M.B. Utilização da citologia vaginal esfoliativa para monitoração do ciclo estral em veado catingueiro. 1992; 1-2. In: *Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals*. 2001; p. 408.
11. Van Mourik, S. Reproductive performance y maternal behaviour in farmed Rusa deer (*Cervus (Rusa) timorensis*). *Applied Animal Behaviour Science*. 1986; 15, 2:147-159.
12. Clutton-Brock, T.H., Iason, G.R., Albon, S.D., Guinness, G.E. Effects of lactation on feeding behaviour and habitat use in red deer hinds. *J. Zool. Lond.*1982b; 198: 227–236.
13. Guinness, F.E., Lincoln, G.A., Short, R.V. The reproductive cycle of the female red deer (*Cervus elaphus l.*). *J. Reprod. Fertil.* 1971; 27: 427–438.
14. Dunham, K. M. Population growth of mountain gazelles reintroduced in central Arabia. *Biol. Conserv.*1997; 81: 205–214.
15. Habibi, K. Arabian gazelles. Publication No. 4, NCWCD, Riyadh 1991.
16. Marmosinskaja, N. V. Territorial and marking behaviour of goitred gazelles (*Artiodactyla, Bovidae*) in Bukhara breeding centre. *Zool. J.*1996; 75: 142–156.
17. Pereladova, O. B., Bahloul, K., Sempe´re´, A. J., Soldatova, N. V., Schadilov, U. M., and Prisiadznuk, V. E. Influence of environmental factors on a population of goitred gazelles (*Gazella subgutturosa subgutturosa* Gldenstaedt, 1780) in semi wild

- conditions in an arid environment: A preliminary study. *J. Arid Environ.* 1998; 39: 577–591.
18. Sempere, A.J., Brown, N., Pereladova, O.B., Bahloul, K., Lacroix, A., Soldatova, N. Comparative Analysis of Reproductive Cycles in Female Persian Gazelle (*Gazella subgutturosa subgutturosa*) (Central Asia) y Sy Gazelle (*Gazella subgutturosa marica*) (Arabian Peninsula). *General y Comparative Endocrinology.* 2001; 121:57–65.
 19. Urquieta, B., Rojas, J.R. "An introduction to South American camelids". En: *Livestock Reproduction in Latin America.* International Atomic Energy Agency Publications. Viena, Austria. 1990-a; 389 - 406.
 20. Glade, A. Antecedentes ecológicos de la vicuña (*Vicugna vicugna*) en el Parque Nacional Lauca, I Región, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Santiago, Chile. Tesis de Grado. 1982; 80p.
 21. Hofmann, R., Otte, K., Ponce, C., Rios, M. El manejo de la vicuña silvestre. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Eschborn, Germany. 1983; 1 y 2: 705p.
 22. Raedeke, K. El guanaco en Magallanes, Chile: su distribución y biología. Corporación Nacional Forestal, Publicación Técnica N° 4, Santiago, Chile. 1978; 182p.
 23. Asdell, S.A. *Patterns of Mammalian Reproduction*, 2nd Ed. Cornell University Press: Ithaca. 1964.
 24. Millar, J.S. Postpartum characteristics of eutherian mammals. *Evolution* 1981, 35:1149-1163.

25. Duncan, P. Horses and Grasses-The Nutritional Ecology of Equids and Their Impact in the Camargue. Springer-Verlag, Ecological-Studies, Berlin. 1992; 87:287.
26. Santiapillai, C., Wijeyamohan, S., Ashby, K.R. The ecology of a free-living population of the ass (*Equus africanus*) at Kalpitiya, Sri Lanka. Biological Conservation. 1999; 91: 43-53.
27. Eisenberg, J.F. Introduction. Tapirs-Status Survey y Conservation Action Plan. IUCN/SSC Tapir Specialist Group. IUCN, Gly, Switzerly y Cambridge, UK, 1997; 1-2.
28. Castellano, T.C., Mangini, P.R. Order Artiodactyla, Family *Tayssuidae* (*Peccaries*). Biology, Medicine, y Surgery of South American Wild Animals. 2001; 382-383.
29. Sowls, L.K. Javelinas y Other Peccaries: Their Biology, Management y Use. 2nd Ed. Texas A&M University Press. 1997.
30. Bercovitch, F.B., Bashaw, M.J., Penny, C.G., Rieches, R.G. Maternal investment in captive giraffes. J. Mammal. 2004; 85: 428–431.
31. Loskutoff, N.M., Walker, L., Ott-Joslin, J.E., Raphael, B.L., Lasley, B.L. Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: II. Comparison between the giraffe (*Giraffa camelopardalis*) and the okapi (*Okapia johnstoni*). Zoo Biol. 1986; 5: 331–338.
32. Reason, R. Reproductive parameters in female giraffe (*Giraffa camelopardalis*) at the BrookWeld Zoo. Anim. Keepers Forum. 2000; 27: 120–123.
33. Skinner, J.D., Hall-Martin, A.J. A note on foetal growth and development of the giraffe (*Giraffa camelopardalis giraffa*). J. Zool., Lond. 1975; 177: 73–79.

34. Kiltie, R.A. Interspecific variation in the mammalian gestation period. *J. Mammal.* 1982; 63: 646–652.
35. Pellew, R.A. Food consumption and energy budgets of the giraffe. *J. Appl. Ecol.* 1984; 21: 141–159.
36. del Castillo, S.M., Bashaw, M.J., Patton, M.L., Rieches, R.R., Bercovitch, F.B. Fecal steroid analysis of female giraffe (*Giraffa camelopardalis*) reproductive condition y the impact of endocrine status on daily time budgets. *General y Comparative Endocrinology.* 2005; 141: 271–281.
37. Schwarzenberger, F., Francke, R., Göltenboth, R. Concentrations of faecal immunoreactive progestagen metabolites during the oestrous cycle and pregnancy in the black rhinoceros (*Diceros bicornis michaeli*). *J. Reprod. Fertil.* 1993a; 98: 285–291.
38. Patton, M.L., Swaisgood, R.R., Czekala, N.M., White, A.M., Fetter, G.A., Montagne, J.P., Rieches, R.G., Lance, V.A. Reproductive cycle length and pregnancy in the Southern White Rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*) as determined by fecal pregnane analysis and observations of mating behavior. *Zoo Biol.* 1999; 18: 111–127.
39. Schwarzenberger, F., Rietschel, W., Vahala, J., Holeckova, D., Thomas, P., Maltzan, J., Baumgartner, K., Schaftenaar, W. Fecal Progesterone, Estrogen, and estrogen Metabolites for Noninvasive Monitoring of Reproductive Function in the Female Indian Rhinoceros, (*Rhinoceros unicornis*). *General y Comparative Endocrinology.* 2000; 119: 300–307.

40. Schwarzenberger, F., Patzl, M., Francke, R., Ochs, A., Buitter, R., Schaftenaar, W., De Meurichy, W. Fecal progestagen evaluations to monitor the estrous cycle and pregnancy in the okapi (*Okapia johnstoni*). *Zoo Biol.* 1993b; 12: 549–559.
41. Lasley, B., Shideler, S. L. 1993. Methods for assessing reproduction in nondomestic species. En: *Zoo and Wild Animal Medicine. Current Therapy*, 3.. W. B. Saunders Co. USA. 1993; 79-86.
42. Kelly R., McNatty, K., Moore, G., Ross, D., Gibb, M. 1982. Plasma concentrations of LH, prolactin, oestradiol, and progesterone in female red deer (*Cervus elaphus*) during pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 1982; 64: 475-483.
43. Sempere, A. Plasma progesterone levels in the roe deer (*Capreolus capreolus L.*). *J. Reprod. Fertil.* 1977; 30: 363-366.
44. Hoffman, B., Barth, D., Karg, H. Progesterone and estrogen level in peripheral plasma of the pregnant and nonpregnant roe deer (*Capreolus capreolus*). *Biol. Reprod.* 1978; 19: 931-935.
45. Schams, D., Barth, D., Karg, H. LH, FSH and progesterone concentrations in peripheral plasma of the female roe deer (*Capreolus capreolus*) during the rutting season. *J. Reprod. Fertil.* 1980; 80: 109-114.
46. Plotka, E., Seal, U., Schmoller, G., Karn, P., Keenlyne, K. Reproductive steroids in the white-tailed deer (*Odocoileus virginianus borealis*). I. Seasonal changes in the female. *Biol. Reprod.* 1977a; 16: 340-343.

47. Plotka, E., Seal, U., Verme, L., Ozoga, J. Reproductive steroids in white tailed deer (*Odocoileus virginianus borealis*). II. Progesterone and estrogen levels in peripheral plasma during pregnancy. *Biol. Reprod.* 1977b; 17: 78-83.
48. Plotka, E., Seal, U., Verme, L., Ozoga, J. Reproductive steroids in deer. III. Luteinizing hormone, estradiol and progesterone around estrus. *Biol. Reprod.* 1980; 22: 576-581.
49. Asher, G. Oestrus cycle and breeding season of farmed fallow deer, *Dama dama*. *J. Reprod. Fertil.* 1985; 75: 521-529.
50. Asher, G., Barrel, G., Peterson A. Hormonal changes around oestrus of farmed fallow deer, *Dama dama*. *J. Reprod. Fertil.* 1986; 78: 487-496.
51. McEwan, E., Whitehead, P. Plasma progesterone levels during anestrus, estrus and pregnancy in reindeer and caribou (*Rangifer tarandus*). *Proc. 2nd Int. Reindeer/Caribou Symp.* Roros, Norway, 1979; 34-38.
52. Santiago Moreno J., González de Bulnes A., Gómez Brunet A., García López M., López Sebastián A. Seasonal breeding activity and anoestrous postpartum in the mouflon (*Ovis ammon musimon*). *Journal of Reproduction and Fertility. Abstract Series.* 1995; N116: 65.
53. Santiago Moreno J., López-Sebastián A., González-Bulnes A., Gómez-Brunet A., Chemineau, P. 2000a. Seasonal changes in ovulatory activity, plasma prolactin and melatonin concentration in Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) and Manchega (*Ovis aries*) ewes. *Reproduction Nutrition and Development*, 2000a; 40: 421-430.

54. Santiago Moreno J., González-Bulnes A., Gómez-Brunet A., López-Sebastián A., Tortonese D.J. The timing of the onset of puberty, extension of the breeding season and length of post-partum anoestrus in the female European Mouflon (*Ovis gmelini musimon*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2001; 32(2): 230–235.
55. Santiago Moreno J., González de Bulnes A., Gómez Brunet A., López Sebastián A. Evolución de los niveles de progesterona durante la gestación de la hembra de muflón (*Ovis gmelini musimon*). 1999. *Medicina Veterinaria* Vol. 16 (3). 134-141.
56. Santiago-Moreno, Interacción medioambiental (fotoperiodo) y componente genético en la respuesta endocrina y actividad reproductiva de la muflona (*Ovis ammon musimon*) y oveja (*Ovis aries*). Tesis Doctorales INIA, Serie: Ganadera, 2000; N° 3. 169 pp.
57. Monfort, S. L., Wemmer, C., Kepler, T. H., Bush, M., Brown, J. KL., Wildt, D. E. Monitoring ovarian function and pregnancy in Eld's deer (*Cervus eldi thamin*) by evaluating urinary steroid metabolite excretion. *J. Reprod. Fertil.* 1990; 88: 271-281.
58. Morrow, C. J., Wildt, D. E., Monfort, S. L. Reproductive seasonality in the female scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*). *Animal Conservation*. 1999; 2: 261-268.
59. Loskutoff, N. M., Ott, J. E., Lasley, B. L. Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates. I. Pregnandiol-3-glucuronide immunoreactivity in the okapi. *Zoo Biol.* 1982; 1: 45-53.
60. Loskutoff, N. M., Ott, J. E., Lasley, B. L. Strategies for assessing ovarian function in exotic species. *J. Zoo Anim. Med.* 1983; 14: 3-10.
61. Hindle, J. E., Hodges, J. K. Metabolism of oestradiol-17 β and progesterone in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). *J. Reprod. fertil.* 1990 ; 90: 571-580.

62. Kasman, L.H., Ramsay, E. C., Lasley, B. L. Urinary steroid evaluation to monitor ovarian function in exotic ungulates. III. Estrone sulfate and pregnandiol-3-glucuronide excretion in the Indian rhinoceros. *Zoo Biol.* 1986; 5: 355.
63. Ramsay, E. C., Kasman, L. H., Lasley, B. L. Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates. V. Estrogen and pregnandiol-3-glucuronide excretion in the black rhinoceros. *Zoo Biol.* 1987; 6: 275-282.
64. Desaulniers, D. M., Goff, A. K., Betteridge, K. J., Rowell, J. E., Flood, P. F. Reproductive hormone concentrations in faeces during the oestrous cycle and pregnancy in cattle (*Bos taurus*) and muskoxen (*Ovibos moschatus*). *Canadian Journal of Zoology* 1989; 67: 1148-1154.
65. Messier, F., Desaulniers, D. M., Goff, A. K., Nault, R., Patenaude, R., Crete, M. Caribou pregnancy diagnosis from immunoreactive progestins and estrogens excreted in feces. *J. Wildlife Manage.* 1990; 54: 279-283.
66. Schwarzenberger, F., Möstl, E., Bamberg, E., Pammer, J., Schmechlik, O. Concentrations of progestagens and oestrogens in the faeces of pregnant Lipizzan, Trotter and Thoroughbred mares. *J. Reprod. fertil.* 1991; 44: 489-499.
67. Chapeau, C., King, G.J., Bamberg, E. Fecal estrogens in one primate y several ungulate species during various reproductive stages. *Animal Reproduction Science*.1993; 34, 2:167-175.
68. Asa, C.S., Bauman, J.E., Houston, E.W., Fischer, M.T., Read, B., Brownfield, C.M., Roser, J.F. Patterns of excretion of fecal estradiol and progesterone and urinary

- chorionic gonadotropin in Grevy's zebra (*Equus grevyi*): Ovulatory cycles and pregnancy. *Zoo Biol.* 2001; 20: 185–195.
69. Pickard, A.R., Abáigar, T., Green, D.I., Holt, W.V., Cano, M. Hormonal characterization of the reproductive cycle and pregnancy in the female Mohor gazelle (*Gazella dama mhor*). *Reproduction.* 2001; 122: 571–580.
70. Pickard, A.R., Holt, W.V., Green, D.I., Cano, M., Abáigar, T. Endocrine correlates of sexual behavior in the Mohor gazelle (*Gazella dama mhor*). *Horm. Behav.* 2003; 44: 303–310.
71. Loskutoff, N.M., Kasman, L.H., Raphael, B.L., Ott-Joslin, J.E., Lasley, B.L. Urinary steroid evaluations to monitor ovarian function in exotic ungulates: IV. Estrogen metabolism in the okapi (*Okapia johnstoni*). *Zoo Biol.* 1987; 6: 213–218.
72. Schwarzenberger, F., Rietschel, W., Matern, B., Schaftenaar, W., Bircher, P., Van Puijenbroeck, B., Leus, K. Noninvasive reproductive monitoring in the okapi (*Okapia johnstoni*). *J. Zoo Wildl. Med.* 1999; 30: 497–503.
73. Morrow, C.J., Monfort, S.L. Ovarian activity in the scimitarhorned oryx (*Oryx dammah*) determined by faecal steroid analysis. *Anim. Reprod. Sci.* 1998; 53:191–207.
74. Shaw, H.J., Green, D.I., Sainsbury, A.W., Holt, W.V. Monitoring ovarian function in Scimitar-horned oryx (*Oryx dammah*) by measurement of fecal 20 α -progesterone metabolites. *Zoo Biol.* 1995; 14: 239–250.
75. Schwarzenberger, F., Speckbacher, G., Bamberg, E. Plasma and fecal progesterone evaluations during and after the breeding season of the female vicuña (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology.* 1995; 43, 3: 625-634.

76. Hodgen, G.D., Itskovitz, J. Recognition and maintenance of pregnancy. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.). *The Physiology of Reproduction*, vol. 2, 2nd ed., Raven Press, New York. 1988; 1995–2021.
77. Hodges, J.K., Green, D.I. The development of an enzyme-immunoassay for urinary pregnanediol-3- glucuronide and its application to reproductive assessment in exotic mammals. *J. Zool.* 1989; 219: 89–99.
78. Kock, N., Morton, D., Kock, M. Reproductive parameters in free-ranging female black rhinoceroses (*Diceros bicornis*) in Zimbabwe. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1991; 58: 55–57.
79. Hindle, J.E., Möstl, E., Hodges, J.K. Measurement of urinary oestrogens and 20 α -dihydroprogesterone during ovarian cycles of black (*Diceros bicornis*) and white (*Ceratotherium simum*) rhinoceroses. *J. Reprod. Fertil.* 1992; 94: 237–249.
80. Schwarzenberger, F., Tomasova, K., Holeckova, D., Matern, B., Möstl, E. Measurement of fecal steroids in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme-immunoassays for 20-oxo-pregnanes. *Zoo Biol.* 1996; 15: 159–171.
81. Schwarzenberger, F., Walzer, C., Tomasova, K., Vahala, J., Meister, J., Goodrowe, K. L., Zima, J., Strauss, G., and Lynch, M. Faecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of function in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Anim. Reprod. Sci.* 1998; 53:173–90.
82. Czekala, N.M., Callison, L. Pregnancy diagnosis in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) by salivary hormone analysis. *Zoo Biol.* 1996; 15: 37–44.

83. Berkeley, E.V., Kirkpatrick, J.F., Schaffer, N.E., Bryant, W.M., Threlfall, W.R. Serum and fecal steroid analysis of ovulation, pregnancy and parturition in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*). *Zoo Biol.* 1997; 16: 121–132.
84. Radcliffe, R.W., Czekala, N.M., Osofsky, S.A. Combined serial ultrasonography and fecal progesterin analysis for reproductive evaluation of the female white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*): preliminary results. *Zoo Biol.* 1997; 16: 445–456.
85. Garnier, J. N., Green, D. I., Pickard, A. R., Shaw, H. J., and Holt, W. V. Non-invasive diagnosis of pregnancy in wild black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) by faecal steroid analysis. *Reprod. Fertil. Dev.* 1998; 10: 451–458.
86. Heistermann, M., Agil, M., Büthe, A., and Hogdes, J. K. Metabolism and excretion of oestradiol-17b and progesterone in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumatrensis*). *Anim. Reprod. Sci.* 1998; 53: 157–172.
87. Schwarzenberger, F., Möstl, E., Palme, R., Bamberg, E. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Anim. Reprod. Sci.* 1996; 42: 515–526.
88. Asa, C.S., Bauman, J.E., Houston, E.W., Fischer, M.T., Read, B., Brownfield, C.M., Roser, J.F. Patterns of excretion of fecal estradiol and progesterone and urinary chorionic gonadotropin in Grevy's zebra (*Equus grevyi*): Ovulatory cycles and pregnancy. *Zoo Biol.* 2001; 20: 185–195.
89. Gleixner, A., Meyer, H. H. D. Non-invasive monitoring of endocrine function by analysis of progesterone, testosterone and estradiol in hair of adult cattle. *Zeith. Saug. Int. J. Mam.* 1997; 62: 71-74.

90. Santiago-Moreno J., González Bulnes A., Gómez Brunet A., Garcia Lopez, M., Del Campo, A., López Sebastián A. Relación del ciclo de crecimiento del pelo con la evolución anual de la prolactina en la hembra del muflón (*Ovis ammon musimon*). ITEA (Vol. Extra). 1997; 18 (Tomo II), 481-483.
91. Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Jewgenod, K., Goritz, F. Ultrasonography as an important tool for the development y application of reproductive technologies in non-domestic species. *Theriogenology*. 2000; 53:73-64.
92. O'Grady, J.P., Yeager, C.H., Thomas, W. Practical applications of real time ultrasounds canning to problems of zoo veterinary medicine. *J Zoo Anim Med* 1978; 9:52-56.
93. Adams, G. P., Plottka, E.D., Asa, C.S., Ginther, O.J. Feasibility characterizing reproductive events in large non-domestic species by transrectal ultrasonic imaging. *J Zoo Biol* 1991; 10:247-259.
94. Du Boulay, G.H., Wilson, O.L. Diagnosis of pregnancy and disease by ultrasound in exotic species. *Symp Zool Soc Lond* 1988; 60:135-15.
95. Hildebrandt, T.B., Goritz, F. Use of ultrasonography in zoo animals. In: Fowler ME, Miller RE (eds), *Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 4*. Philadelphia: WB Saunders Co., 1998; 41-54.
96. Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, J.R., Grant, W.E. Serum progesterone, estradiol-17 β , y glucocorticoides in the collared peccary during gestation y lactation as influenced by dietary protein y energy. *General y Comparative Endocrinology*. 1985; 59(1):358-368.

97. Augusto, A.Q. Ultrasonography in South American Wild Animals. *Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals*. 2001; 466.
98. Goritz, F., Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Quandt, S., Grobler, D., Jewgenow, K., Rohleder, M., Meyer, H.H.D., Hofmann, R.R. Results of a hormonal contraception programme in free-ranging African elephants. *Verh ber Erkr Zootiere* 1999; 39:39-40.
99. Hildebrandt TB, Goritz F, Schnorrenberg A, Hermes R, Schmitt DL, Hagan D, Peterson J, Brown J, Loskutoff N, Pratt NC, Lehnhardt JL, Miller G, Montali RJ, Olson D. Successful artificial insemination of African nulliparous elephants at the Indianapolis Zoo. *Verh ver Erkr Zootiere* 1999; 39: 41-46.
100. Brown JL, Loskutoff NM, Pratt NC, Lehnhardt JL, Miller G, Montali RJ, Olson D. Successful artificial insemination of African nulliparous elephants at the Indianapolis Zoo. *Verh ber Erkr Zootiere*. 1999; 39: 41-46.
101. Pope CE, Loskutoff NM. Embryo transfer and semen technology from cattle applied to nondomestic artiodactylids. In: Fowler ME, Miller RE (eds), *Zoo and Wild Animal Medicine: Current Therapy 4*. Philadelphia W: B Saunders Co., 1998; 597-604.
102. Goritz F, Hildebrandt TB, Lengwinat T, Meyer, HHD. Ultrasound guided artificial insemination in roe deer (*Capreolus capreolus*). *Reprod Domest Anim* 1996;30: 460 abstr.
103. Giltner R, Seager SWJ, Gijritz F, Blottner S, Ochs A, Hildebrandt TB. Fertility evaluation in males of different endangered species at the Berlin Zoo. *Proc 2nd Scient Meet Europ Assoc Zoo Wildl Vet Chester, UK*, 1998; 373-38.

104. Pitra C, Hildebrandt TB, Reinsch A, Strauss G, Pohle C, Kanitz W. Non-surgical embryo recovery in the Yak (*Bos mutus grunniens*) using induction of ovulation. Proc 12th ICAR, The Hague 1992; 2: 805-807.
105. Duarte, J.M.B., Garcia, J.M. Reprodução assistida en Cervidae brasileiros. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 1995; 19(1(2)):111-121. In: Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals. 2001; 408.
106. Wenkoff, M.S.,Bringans, M.J. Embryo transfer in cervids. In L.A. Renecker and R.J. Hudson, eds. Wildlife production: Conservation y Sustainable Development. Fairbanks, Alaska, University of Alaska Press. 1998; 461-463.
107. Newby, J.E. Aridland wildlife in decline: the case of the scimitar-horned oryx. In: Dixon, A., Jones, D. (Eds.), Conservation and Biology of Desert Antelopes. Christopher Helm, London. 1988; 146–166.
108. Wildt, D.E. Genetic resource banking for conserving wildlife species: justification, examples and becoming organised on a global basis. Anim. Reprod. Sci. 1992; 28, 247–257.
109. Boever, J., Knox, D., Merilan, C., Read, B. Estrus induction and artificial insemination with successful pregnancy in Speke's gazelle. In: Proceedings of the 9th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination.1980; 565–569.
110. Densmore, M.A., Bowen, M.J., Magyar, S.J., Amoss, M.S., Robinson, R.M., Harms, P.G., Kraemer, D.C. Artificial insemination with frozen, thawed semen and pregnancy diagnosis in addax (*Addax nasomaculatus*). Zoo Biol. 1987; 6: 21–29.

111. Holt, W.V., Moore, H.D.M., North, R.D., Hartman, T.D., Hodges, J.K. Hormonal and behavioural detection of oestrus in blackbuck, *Antelope cervicapra*, and successful artificial insemination with fresh and frozen semen. *J. Reprod. Fertil.* 1988; 82: 717–725.
112. Raphael, B.L., Loskutoff, N.M., Howard, J.G., Wolfe, B.A., Nemeč, L.A., Schiewe, M.C., Kraemer, D.C. Embryo transfer and artificial insemination in suni. *Theriogenology.* 1989; 31: 244.
113. Holt, W.V., Abaigar, T., Jabbour, H.N. Oestrous synchronization, semen preservation and artificial insemination in the Mhorr gazelle (*Gazella dama mhorr*) for the establishment of a genome resource bank programme. *Reprod. Fertil. Dev.* 1996; 8: 1215–1222.
114. Del Campo, M.R., Del Campo, C.H., Adams, G.P., Mapletoft, R.J. The application of new reproductive technologies to south american camelids. *Theriogenology.* 1995; 43:21-30.
115. Ogren, L., Talamantes, F. The placenta as an endocrine organ: polypeptides. In: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.), *The Physiology of Reproduction*, second ed, vol. 2. Raven Press, New York, 1994; 875–945.
116. Green, J.A., Xie, S., Roberts, R.M. Pepsin-related molecules secreted by trophoblast. *Reviews in Reproduction* 1998; 3: 62–69.
117. Sasser, R.G., Ruder, C.A., Ivani, K.A., Butler, J.E., Hamilton, W.C. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of

- cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biology of Reproduction* 1986; 35: 936–942.
118. Zoli, A.P., Beckers, J.F., Wouters-Ballman, P., Closset, J., Falmagne, P., Ectors, F. Purification and characterization of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Biology of Reproduction*. 1991; 45: 1–10.
119. Patel, O.V., Takahashi, T., Imai, K., Hashizume, K. Generation y purification of recombinant bovine pregnancy associated glycoprotein. *The Veterinary Journal*. 2004; 168:328–335.
120. Graham, L.H., Reid, K., Webster, T., Richards, M., Joseph, S. Endocrine patterns associated with reproduction in the Nile hippopotamus (*Hippopotamus amphibius*) as assessed by fecal progesterone analysis. *General and Comparative Endocrinology*. 2002; 128: 74–81.
121. Byers, J. A. & Moodie, J. D. Sex-specific maternal investment in pronghorn, and the question of a limit on differential provisioning in ungulates. *Behav. Ecol. Sociobiol*. 1990; 26: 157-164.
122. Mac Donald, D. *The new encyclopedia of mammals*. Oxford University press. 2001; 529.
123. Mac Donald, D. *The new encyclopedia of mammals*. Oxford University press. 2001; 503.
124. Miragaya, M.H., Aba, M.A., Capdevielle, E.F., Ferrer, M.S., Chaves, M.G., Rutter, B., Agüero, A. 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology*. 2004; 61: 663-671.

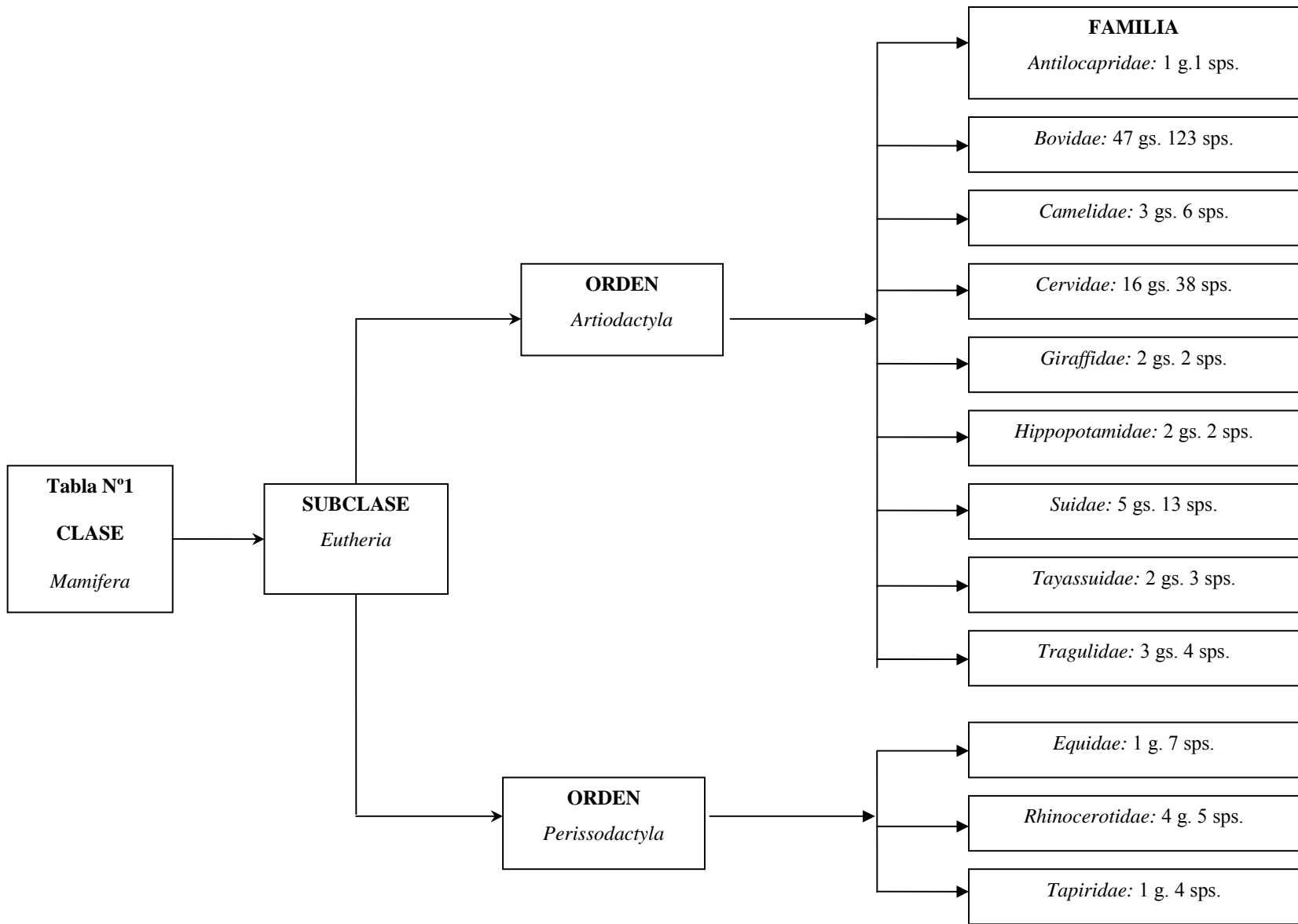


Tabla N°3					
Orden	Familia	Ciclo sexual	Gestación	Metabolitos hormonales	Ultrasonido
<i>Artiodactyla</i>	<i>Antilocapridae</i>		<i>Si</i> _{121,122}		
	<i>Bovidae</i>	<i>Si</i> _{18,52,53,55,69,70,73,74}	<i>Si</i> _{54,55,64,65}	<i>Si</i> _{18,64,65,73,74}	<i>Si</i> _{104,109,110,,111,112,113}
	<i>Camelidae</i>	<i>Si</i> _{19,75}	<i>Si</i> _{20,75}	<i>Si</i> ₇₅	<i>Si</i> _{114,124}
	<i>Cervidae</i>	<i>Si</i> <i>10,13,45,48,49,50,51,57</i>	<i>Si</i> _{42,44}	<i>Si</i> ₅₇	<i>Si</i> _{102,105,}
	<i>Giraffidae</i>	<i>Si</i> _{32,37,39,57,71,72}	<i>Si</i> _{30,33,34,39}	<i>Si</i> _{31,35,37,39,57,72}	<i>Si</i> ₁₀₂
	<i>Hippopotamidae</i>	<i>Si</i> ₁₂₀	<i>Si</i> ₁₂₀	<i>Si</i> ₁₂₀	
	<i>Suidae</i>		<i>Si</i> ₂₉		<i>Si</i> ₉₇
	<i>Tayassuidae</i>		<i>Si</i> ₂₈		<i>Si</i> ₉₇
	<i>Tragulidae</i>		<i>Si</i> ₁₂₃		
<i>Perissodactyla</i>	<i>Equidae</i>	<i>Si</i> ₆₈	<i>Si</i> _{26,68}	<i>Si</i> ₆₈	
	<i>Rhinocerotidae</i>	<i>Si</i> _{38,79,83,86,88}	<i>Si</i> _{38,61,62,80,81,82,83,85,88}	<i>Si</i> _{38,39,61,62,79,80,81,82,83,85,86}	<i>Si</i> ₈₄
N° referencia bibliográfica	<i>Tapiridae</i>	<i>Si</i> ₂₇	<i>Si</i> ₂₇		

