

Sex allocation of *Odocoileus virginianus* by analysis of excreta subjected to outdoor

Asignación del sexo en *Odocoileus virginianus* por análisis de excretas sometidas a intemperie

Montes-Pérez Rubén^{1*}, Montes-Cruz Fausto¹, Góngora-Chan Cristina¹, López-Cobá Ermilo², Magaña-Monforte Juan¹, Segura-Correa José¹

¹Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán. México. ²Instituto Tecnológico de Tizimin. México. *Autor responsable y correspondencia Rubén Montes-Pérez. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Autónoma de Yucatán. Carretera Mérida-Xmatkuil km 15.5. CP. 97315 Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: mperez@correo.uady.mx

ABSTRACT

The objective was to evaluate the efficiency of the allocation sex white-tailed deer adults in reproductive and non-reproductive periods, by measuring levels of proportion of metabolites of androgens, estrogens and fecal progestins and morphometric measurements of excreta, subject to weather for 0, 10, 20 and 30 days. Deer fecal samples were collected in three farms of Yucatan State. Each sample was identified by animal and sex. Values were morphometric width, length, length/width and average pellet volume, the analysis was applied fuzzy clustering. Fecal steroid metabolites were estimated by radioimmunoassay. Androgen/progestin, progestins/androgens, estrogens/androgens, androgens/estrogens, progestins/estrogens and estrogen/progestin indexes were calculated. Theory predictive value was used in both methods to evaluate efficiency. It is concluded that the allocation of sex ratios of fecal estrogen metabolites/androgen and androgen/estrogen weather of 0 and 10 days are efficient in non-breeding season; progestin/estrogen, progestins/androgen, estrogen/androgen in the four days of weather, have greater efficiency in the breeding season, the morphometric method is not efficient in both seasons, nor in any of the treatments outdoors.

Keywords: deer, sex allocation, efficiency, steroids hormone, morphometry excreta.

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la eficiencia de la asignación del sexo de venados cola blanca adultos en las épocas reproductiva y no reproductiva, por la medición de índices de proporción de metabolitos de andrógenos, estrógenos y progestinas fecales y las medidas morfométricas de las excretas, sometidas a intemperie por 0, 10, 20 y 30 días. Se colectaron muestras fecales de venados en tres criaderos del estado de Yucatán. Cada muestra fue identificada por animal y sexo. Los valores morfométricos fueron ancho, longitud, relación longitud/ancho y volumen promedio de pellets, se aplicó el análisis de grupos difusos. Los metabolitos de esteroides fecales fueron estimados por radioinmunoanálisis. Se calcularon los índices Andrógenos/Progestinas, Progestinas/Andrógenos, Estrógenos/Andrógenos, Andrógenos/Estrógenos, Progestinas/Estrógenos y Estrógenos/Progestinas. Se utilizó la Teoría del valor predictivo en ambos métodos para evaluar la eficiencia. Se concluye que la asignación del sexo por índices de metabolitos fecales estrógenos/andrógenos y andrógenos/estrógenos a intemperie de 0 y 10 días son eficientes en la época no reproductiva; progestina/estrógenos, andrógenos/progestinas progestinas/andrógenos, estrógenos/andrógenos en los cuatro tiempos de intemperie, tienen mayor eficiencia en la época reproductiva, el método morfométrico no es eficiente en ambas épocas, ni en alguno de los tratamientos a intemperie.

Palabras clave: venados, asignación de sexo, eficiencia, hormonas esteroides, morfometría de excretas.

INTRODUCCIÓN

Las evaluaciones de los estudios poblacionales de venados cola blanca se han efectuado en varias partes de México (Gallina, 2006), pero son escasos aquellos donde se ha registrado la proporción de machos y hembras (Mandujano y Gallina, 2005), estos datos son importantes, especialmente cuando esta población se somete a proceso de aprovechamiento mediante la cacería; ya que la extracción de ejemplares dirigido a un solo sexo puede traer como resultado una modificación en la proporción de sexos, lo que a su vez provocaría un cambio en la estructura de la población.

La obtención de esta información se puede realizar por observación directa del animal, siempre y cuando haya dimorfismo sexual; pero cuando hay baja detectabilidad de los ejemplares, como sucede en selvas tropicales, es complicado tomar la información del sexo en venados cola blanca (Mandujano, 2011). Bajo estas condiciones, entonces se efectúa la identificación del sexo mediante la medición de las hormonas esteroides sexuales, o por marcadores genéticos de ADN; tradicionalmente estas metodologías se aplican en sangre y en células fecales o folículo piloso (Qiao *et al.*, 2007); sin embargo la colecta sanguínea implica que el animal debe ser sujetado, lo cual puede intensificar el estrés en el individuo, dando como resultado una alteración en las concentraciones de hormonas esteroideas (Valdespino *et al.*, 2007).

Una característica importante de estas hormonas es que son catabolizadas en hígado y riñones, y excretadas en la orina y heces. La evaluación de las concentraciones de sus metabolitos en excretas, ha demostrado ser una técnica útil para la caracterización reproductiva de varias especies (Valdespino *et al.*, 2007). La medición de metabolitos esteroides fecales se ha realizado con éxito en ungulados (Riveros, 2010). Para la determinación del sexo mediante excretas, también se ha utilizado el análisis morfométrico de grupos fecales en venados, aplicando la teoría de grupos difusos (Camargo y Mandujano, 2009).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de la asignación del sexo en venados cola blanca *Odocoileus virginianus* adultos en las época reproductiva y no reproductiva; a través de la medición de índices de la proporción de metabolitos de andrógenos, estrógenos y progestinas fecales, y por las medidas morfométricas de las excretas sometidas a cuatro periodos de intemperie, 0, 10, 20 y 30 días de exposición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron heces frescas de *O. virginianus* en cinco Unidades de Conservación y Manejo de Vida Silvestre, en los municipios de Mérida, Ticul y Umán del estado de Yucatán. Se obtuvieron 40 muestras de 20 de hembras y 20 de machos adultos, en la

época reproductiva (Octubre de 2009 a Enero de 2010); así como 50 muestras (25 de hembras y 25 de machos adultos), en la época no reproductiva (Abril a Julio de 2010). Las muestras se identificaron con el sexo del animal, lugar y fecha de recolección; se colocaron en una nevera con refrigerante para su conservación, e inmediatamente después fueron congeladas a -20°C . Una vez colectadas todas las muestras, fueron descongeladas y colocadas a intemperie durante 10 (Tratamiento 1), 20 (Tratamiento 2) y 30 días (Tratamiento 3). El Tratamiento 1 es el día 0; posteriormente las muestras fecales fueron separadas en dos submuestras, una de éstas fue sometida a la extracción de metabolitos de hormonas esteroides fecales; a partir de los extractos se estimaron los niveles de metabolitos de andrógenos, progestinas y estrógenos mediante radioinmunoanálisis en fase sólida (Coat-A-Count, USA), de acuerdo el método descrito por Cervera-Hernández *et al.* (2015).

De estos resultados se calcularon los índices: Andrógenos/Progestinas, Progestinas/Andrógenos, Estrógenos/Andrógenos, Andrógenos/Estrógenos, Progestinas/Estrógenos y Estrógenos/Progestinas. Los resultados de ambos métodos fueron relacionados con el sexo de los animales muestreados, y se eligieron los índices que tuvieron mayor eficiencia. Con la otra submuestra los pellets fueron medidos con vernier la longitud (L), ancho (A), relación longitud/ancho (L/A) en milímetros y el volumen del pellet en mm^3 ; se calculó el volumen del pellet acuerdo a la ecuación del cilindro. Se aplicó la teoría de los grupos difusos a las variables morfométrica tomadas en conjunto, utilizando el programa Fuzzy clustering tool (Camargo y Mandujano, 2009), para asignar sexo.

Se estimó el valor de eficiencia total que es la probabilidad de asignar exitosamente el sexo en ambos casos, por medio de la Teoría del Valor Predictivo (Escrig-sos *et al.*, 2006). La evaluación de la confiabilidad de la eficiencia, se efectuó mediante la estimación de los intervalos de confianza al 95%, por el software Epidat versión 3.1 (Xunta de Galicia, 2007)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se calcularon las eficiencias e intervalos de confianza de los índices que se obtuvieron con los tres metabolitos de hormonas en ambas épocas, y se eligieron aquellos que presentaron los mayores valores para cada tratamiento, los cuales se muestran en los Cuadros 1 y 2.

El volumen del pellet mostró diferencias significativas ($P < 0.05$), entre sexos en los tratamientos dos y tres en el periodo reproductivo. Del análisis en conjunto de las medidas morfométricas, los valores de eficiencias e intervalos de confianza, se muestran en los Cuadros 3 y 4.

Algunas investigaciones sobre la determinación de sexo mediante esteroides fecales, se han realizado en especies como lobo mexicano (Soto *et al.* 2009) y en distintas aves (Valdespino *et al.*, 2007); donde han utilizado la relación de Testosterona (T), Estradiol (E2) y Progesterona (P4) (T/E2 y T/P4); para realizar el sexado, encontrando que la relación T/E2 es una relación viable para realizar la asignación del sexo.

En nuestro trabajo analizamos todos los índices que se podían obtener de las tres hormonas, y encontramos que la relación E2/T y T/E2 asignaron el sexo más eficientemente que los demás tratamientos en la época no reproductiva. En la época reproductiva los índices más eficientes fueron P4/E2, T/P4, P4/T y E2/T; en los tratamientos T1, T2, T3, T4 respectivamente; sin embargo los índices más eficientes en la época reproductiva no muestran una tendencia a disminuir con respecto al tiempo, como se aprecia en la época no reproductiva.

Es posible que los menores valores de eficiencia en la época no reproductiva sea consecuencia de la inactividad endocrina de ovarios y testículos de venados adultos; por tanto la excreción de metabolitos de esteroides fecales sea mínima y variable entre los ejemplares, situación contraria en la época reproductiva, cuando los valores de estrógenos y progestinas se elevan en hembras adultas cíclicas; por tanto se expresan en mayor cantidad en sus metabolitos fecales (Arroyo *et al.*, 2013).

También se observó que hubo un aumento en la concentración de testosterona durante la época reproductiva, principalmente en las hembras. Es posible que hubiera competencia entre hembras por causa de la posición jerárquica entre ellas, puesto que se han observado elevaciones en las concentraciones de testosterona en estos casos en gacelas (Ekernas, 2010).

Cuadro 1. Eficiencia e intervalos de confianza al 95% (IC95) de los índices de metabolitos de hormona (E2 = estrógenos, T = andrógenos, P4 = progestinas) en excretas de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en la época no reproductiva, sometidas a tres periodos de intemperie 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3) y 30 (T4) días.

Estadístico	Tratamiento			
	T1	T2	T3	T4
Índice	E2/T	T/E2	T/P4	E2/P4
Eficiencia	77.5%	75%	70%	62.5%
IC95	63.3 a 91.69%	60.3 a 89.6%	54.5 a 85.4%	46.2 a 78.7%

Cuadro 2. Eficiencia e intervalos de confianza al 95% (IC95) de los índices de metabolitos de hormona (E2 = estrógenos, T = andrógenos, P4 = progestinas) en excretas de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en la época reproductiva, sometidas a tres periodos de intemperie 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3) y 30 (T4) días.

Estadístico	Tratamiento			
	T1	T2	T3	T4
Índice	P4/E2	T/P4	P4/T	E2/T
Eficiencia	84.6%	75%	86.8%	84.8%
IC95	72 a 97.2%	60.3 a 89.6%	74.78 a 98.9%	71.1 a 98.6%

Cuadro 3. Eficiencia e intervalos de confianza al 95% (IC95) de las medidas morfométricas de las excretas de venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en la época reproductiva, sometidas a tres periodos de intemperie 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3) y 30 (T4) días.

Estadístico	Tratamiento			
	T1	T2	T3	T4
Eficiencia	47.5%	52.5%	57.5%	52.5%
IC95	30.77 a 64.23%	35.77 a 69.23%	40.93 a 74.07%	35.77 a 69.23%

Cuadro 4. Eficiencia e intervalos de confianza al 95% (IC95) de las medidas morfométricas de las excretas de venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) de la época no reproductiva, sometidas a tres periodos de intemperie 0 (T1), 10 (T2), 20 (T3) y 30 (T4) días.

Estadístico	T1	T2	T3	T4
	Eficiencia	62%	54%	56%
IC95	47.55 a 76.45%	39.19 a 68.81%	41.24 a 70.76%	39.19 a 68.81%

Debido a que solo el valor puntual de la eficiencia puede presentar variabilidad, debido a que diferentes muestras pueden tomar valores cercanos o lejanos al valor verdadero del parámetro; se sugiere que un estimador puntual se presente siempre acompañado de su desviación estándar, y cuando sea posible se establezcan límites aproximados para el error del estimador; a estos límites se les conoce como intervalos de confianza, el cual es un rango que tiene una confianza razonable y en el cual se encontrará la verdadera media (Newcombe y Merino, 2006).

Se calcularon los intervalos de confianza al 95% para determinar en qué rango de valores variaría la eficiencia de los mejores índices, y así determinar cuál proporcionaría mayor confiabilidad para ser usado; eligiendo los índices que presenten intervalos de confianza mayores al 50% de eficiencia; se considerarían como los más confiables, ya que valores iguales o menores caerían como pruebas de azar (50/50) (Escrig-Sos *et al.*, 2006). Se encontró que en la época no reproductiva el índice de E2/P4 que corresponde al T4, fue el que presentó un intervalo de confianza menor al 50% en su eficiencia; y el T3 se encuentra ligeramente por arriba del 50%; por lo que se consideran que ambos no son confiables para realizar la prueba la asignación del sexo a los 20 y 30 días de exposición a la intemperie.

En la época reproductiva se observó que en todos los tratamientos las eficiencias presentaron intervalos de confianza mayores al 50%, lo que nos indica que en cualquier tratamiento se puede realizar una correcta asignación del sexo.

La asignación del sexo con el método morfométrico en la época no reproductiva, las eficiencias de las variables morfométricas conjuntas (longitud, ancho, volumen y L/A) disminuyeron gradualmente con el tiempo, excepto entre T2 y T3 en la época reproductiva el volumen del pellet presentó diferencias significativas en ambos sexos ($P < 0.05$); sin embargo las eficiencias son similares a la época no reproductiva, todas ellas alrededor y debajo de 50%. Los factores que podrían afectar las características morfométricas de los pellets, son la temperatura ambiental, la precipitación pluvial (PP), la humedad y los artrópodos del suelo.

En la época no reproductiva se registró de muy baja a moderada PP y alta temperatura ambiental, estos factores pudieron ejercer efecto erosivo sobre el pellet, como resultado del impacto de las gotas de lluvia sobre éstos; el efecto depende del contenido de humedad en el pellet y la intensidad de lluvia. Se ha observado que si el suelo está seco, lo cual ocurre en climas subtropicales como el de Yucatán, y la intensidad de lluvia es fuerte, los agregados se rompen rápidamente al hidratarse; y si los agregados están parcialmente húmedos, o la intensidad de lluvia es baja o moderada, se producen

microrrupturas y los agregados orgánicos se disgregan y transforman en otros más pequeños (Morgan, 2005).

Otro factor que pudo afectar la forma o tamaño de los pellets, son los artrópodos del suelo; en algunas muestras se observó la presencia de artrópodos y algunas de éstas presentaban orificios de diferentes tamaños. Se ha reportado que los escarabajos de las Subfamilias Scarabaeinae, Geotrupinae y Aphodiinae, utilizan principalmente el estiércol animal para su alimentación y reproducción; y por tanto producen fragmentación de pellets (Flota-Bañuelos *et al.*, 2012). Es posible que la combinación de estos factores pudieron influir sobre los cambios morfométricos de los pellets, especialmente porque la eficiencia de la evaluación morfométrica de pellets fue la más baja.

Las medidas promedio de las variables morfométricas fueron ligeramente mayores en las hembras que en los machos, en ambas épocas (reproductiva y no reproductiva); estos resultados no coinciden con lo mencionado por Sánchez *et al* (2009), el cual han reportado valores promedio más altos para machos en poblaciones de venado cola blanca del centro y norte de México; las diferencias promedio en las medidas morfométricas entre machos y hembras no fue significativa, como se mencionó anteriormente, excepto en volumen.

El programa Fuzzy no diferenció las medidas morfométricas de las excretas de machos adultos y de hembras adultas, esto se puede deber a que el método se basa en el supuesto de que el dimorfismo sexual de excretas es por la capacidad intestinal. Hay mayor capacidad intestinal en animales con mayor peso, que generalmente ocurre en machos (Clauss *et al.* 2007). Sin embargo cuando el dimorfismo sexual existe, las medidas morfométricas de excretas de machos y hembras usualmente se sobreponen; por tanto, es de esperarse que si el tamaño del cuerpo influye en el tamaño del pellet, este criterio solo es fiable en los extremos de la distribución de tamaños de los pellets, que corresponden a los animales más pequeños y más grandes, y no necesariamente por el sexo (Camargo y Mandujano, 2009).

Los valores de eficiencias en los tratamientos de ambas épocas fueron bajos, estos oscilaron entre el 47.5% y el 62%. Escrig-Sos *et al.* (2006), menciona que un valor igual o menor del 50% indica que el test es más engañoso que certero; por tanto las eficiencias no son confiables.

CONCLUSIÓN

La asignación del sexo por índices de proporción de metabolitos fecales de estrógenos/andrógenos y andrógenos/estrógenos a intemperie de 0 y 10 días, son eficientes en la época no reproductiva; sin embargo los índices progestina/estrógenos, andrógenos/progestinas, progestinas/andrógenos, estrógenos/andrógenos en los cuatro

tiempos de intemperie, tienen mayor eficiencia en la época reproductiva; mientras que el método morfométrico mediante análisis de grupos difusos, no es eficiente en ambas épocas, ni en alguno de los tratamientos a intemperie.

LITERATURA CITADA

- ARROYO RE, Vital GC, Lavín MP. Análisis fecales en el estudio de la reproducción en cérvidos y su papel en la conservación. *Bio Ciencias*. 2013; 2(3): 130-139.
- CAMARGO A, Mandujano S. Evaluación de la morfometría de pellets como método de categorización de sexos y edades en venado cola blanca (*Odocoileus virginianus mexicanus*) en Puebla, México. *Revista Mexicana de Mastozoología*. 2009; 13(1): 92-104.
- CERVERA-HERNANDEZ P, Montes-Pérez RC, Victoria-Arceo F, Camacho-Reyes J, Castillo-López IF. Método no invasivo de diagnóstico de gestación en venadas *Odocoileus virginianus*. *Ciencia en Desarrollo*. 2015; 6(1): 9-16. <http://dx.doi.org/10.19053/01217488.3644>
- CLAUS M, Schwarm A, Ortmann S, Streich WJ, Hummel J. A case of non-scaling in mammalian physiology? Body size, digestive capacity, food intake, and ingesta passage in mammalian herbivores. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2007; 148(2): 249–265. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.05.024>
- EKERNAS SL. Female competition and the role of testosterone in a polygynous system. (M. Sc. Thesis). Montana, USA: University of Montana Missoula, 2010.
- ESCRIG-SOS J, Martínez-Ramos D, Miralles-Tena JM. Pruebas diagnósticas: Nociones básicas para su correcta interpretación y uso. *Cirugía Española*. 2006; 79(5):267-273. [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-739X\(06\)70871-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-739X(06)70871-5)
- FLOTA-BAÑUELOS C, López-Collado J, Vargas-Mendoza M, Fajersson P, González-Hernández H, Martínez-Morales I. Efecto de la ivermectina en la dinámica espaciotemporal de escarabajos estercoleros en Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 2012; 15(2): 227 – 239.
- GALLINA S. Los venados de México: 30 años de estudio. X Simposio sobre Venados en México. FMVZ-UNAM Asociación Nacional de Ganaderos Diversificados. México DF; México. 2006: 71-73.
- MANDUJANO S. Consideraciones para el manejo del venado cola blanca en UMA extensivas en bosques tropicales. En: Sánchez O, Zamorano P, Peters E & Moya H, Temas sobre conservación de vertebrados silvestres en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México DF, México. 2011: 249-275. ISBN: 6077908487.
- MANDUJANO S, Gallina S. Dinámica poblacional del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en un bosque tropical seco. En: Sánchez-Cordero V y Medellín R, Contribuciones Mastozoológicas en Homenaje a Bernardo Villa. Instituto de Biología e Instituto de Ecología UNAM, CONABIO. México DF, México. 2005: 335-348. ISBN: 970-32-2603-5.
- MORGAN RPC. *Soil erosion & Conservation*. Third edition. Blackwell Publishing. Oxford, UK. 2005: 11-44. ISBN: 1-4051-1781-8.

- NEWCOMBE RG, Merino SC. Intervalos de confianza para las estimaciones de proporciones y las diferencias entre ellas. Interdisciplinaria. 2006; 23(2): 141-154.
- XUNTA DE GALICIA/HDA (OPS-OMS). Epidat 3.1 Una herramienta Informática para el análisis epidemiológico de datos tabulados. Disponible en: <http://epidat.software.informer.com/3.1/>. Publicado en 2007. Acceso en Septiembre 2010.
- QIAO Y, Zou F, Wei K and Yue B. A Rapid Sex-Identification Test for the Forest Musk Deer (*Moschus berezovskii*) Based on the ZFX/ZFY Gene. Zoological Science. 2007; 24: 493–495. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.24.493>
- RIVEROS FJL. Métodos de estudio de la reproducción en hembras de ungulados silvestres. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. 2010; 11(10): 1-28.
- SANCHEZ G, Aguilar M, Hernández L. Estudio poblacional y uso de hábitat por el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en un bosque templado de la sierra de Pachuca, Hidalgo, México. Tropical Conservation Science. 2009; 2(2): 204-214.
- SOTO M, Salame A, Ramírez J, Yáñez L & Armella M. Valoración de hormonas esteroides en heces de una pareja de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en cautiverio. Acta Zoológica Mexicana. 2009; 20(2): 187-196.
- VALDESPINO C, Martínez R, García L, Martínez L. Evaluación de eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados silvestres a partir de sus excretas: Evolución de una metodología no invasiva. Acta Zoológica Mexicana (nueva serie). 2007; 23(3): 151-180

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por FOMIX-Gobierno del Estado de Yucatán, proyecto número YUC-2006-C05-65725.