



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Ciencias Biológicas

Tesina de grado

**La torcaza común (*Zenaida auriculata*) como posible
excepción a la Hipótesis del Desafío.**

Tesinista:

Ludmila Maldonado

Firma: _____

Director:

Dr. Diego Javier Valdez

Firma: _____



Córdoba, 18 de octubre de 2018.

Índice

<i>Resumen</i>	2
<i>Palabras claves</i>	3
1. Introducción	4
2. Objetivos	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivo específico.....	8
3. Materiales y métodos	8
3.1. Muestreo.....	8
3.2. Sacrificio de ejemplares	9
3.3. Determinación del tamaño gonadal.....	9
3.4. Identificación hormonal	9
3.5. Cuantificación hormonal	10
3.6. Análisis estadístico.....	11
4. Resultados	12
4.1. Muestreo.....	12
4.2. Tamaño gonadal	12
4.3. Identificación hormonal	14
4.3.1. HPLC testosterona	14
4.3.2. HPLC 17 β estradiol	14
4.4. Cuantificación hormonal	15
4.4.1. RIA Testosterona	15
4.4.2. RIA 17 β estradiol	17
5. Discusión.....	18
6. Conclusión.....	20
7. Agradecimientos.....	21
8. Bibliografía.....	22
9. Anexo	27

La torcaza común (*Zenaida auriculata*) como posible excepción a la Hipótesis del Desafío.

Resumen

El fotoperiodo es el principal responsable de la regulación de los eventos reproductivos en las especies de aves que viven a grandes latitudes. A lo largo del año se percibe un Periodo No Reproductivo (PNR), de fotoperiodo corto, y un Periodo Reproductivo (PR), de fotoperiodo largo. Un aumento en la actividad de los fotorreceptores encefálicos durante el PR lleva a una mayor actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. Como consecuencia de esto, se genera el crecimiento y desarrollo de las gónadas, lo que lleva a la producción de hormonas sexuales. La variación de los niveles plasmáticos de hormonas sexuales entre PNR y PR ha sido previamente reportada en aves con diferentes sistemas reproductivos (monógamo, poliándrico, poligínico, promiscuo, etc.). Al respecto, J. C. Wingfield *et al.* (1990) propusieron una relación entre el tipo de sistema reproductivo, el tipo de estrategias reproductivas (número de nidadas, interacción entre machos, cuidado parental) y el perfil estacional de la hormona testosterona en machos. Esta relación fue denominada como Hipótesis del Desafío. En ella se predice cómo serán los niveles plasmáticos de testosterona entre PNR-PR y en cada una de las diferentes etapas del PR. En este contexto, la torcaza común (*Zenaida auriculata*), es un modelo aviar interesante para poner a prueba esta hipótesis ya que es considerada plaga a nivel regional (Sudamérica, principalmente en ciudades) y presenta características reproductivas que favorecen este comportamiento. La especie posee un sistema reproductivo del tipo monógamo con cuidado biparental y reproducción continua a lo largo del año. Esto podría ser atribuido a que los machos a nivel poblacional no sufren una retracción gonadal marcada, a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de las especies de aves estudiadas que poseen estacionalidad marcada. Hasta la fecha la base endocrina de su reproducción continua no ha sido abordada, y en base a esta información, inferimos que los niveles de las hormonas sexuales no variarán de manera significativa entre el PNR y PR. Esto se contrapone con lo planteado en la Hipótesis del Desafío, ya que para machos de especies monógamas, predice que los niveles de testosterona solo son elevados durante el establecimiento del territorio y la cópula dentro del PR. El objetivo del presente trabajo es determinar si la torcaza común se ajusta a la Hipótesis del Desafío, determinando el perfil estacional (PNR y PR) de las hormonas sexuales y corroborar la falta de retracción gonadal observada por Bucher E. H. *et al.* 1977. Nuestros resultados

indican que a pesar de no poseer retracción gonadal marcada, la funcionalidad de las gónadas es estacional (PNR vs. PR) y sincronizada con el fotoperiodo. Los niveles de testosterona (determinados por RIA) fueron mínimos durante el invierno y alcanzaron valores máximos durante la primavera-verano lo que indica que esta especie de paloma se ajustaría a la hipótesis propuesta por J. C. Wingfield *et al.* 1990.

Palabras claves: Testosterona, Estradiol, RIA, Fotoperiodo, Columbiformes.

1. Introducción

En las especies de aves que viven a grandes latitudes los eventos reproductivos están principalmente controlados por el fotoperiodo ⁽¹⁻⁴⁾. El mismo se percibe a través de fotorreceptores encefálicos ubicados en el hipotálamo ⁽⁵⁻⁸⁾. Durante fotoperiodos largos, la información transmitida por ellos pone en marcha el metabolismo de las hormonas tiroideas (T4 a T3), tanto a nivel central (cefálico) como periférico (circulación) ⁽⁹⁻¹¹⁾. Este proceso lleva a un aumento en la actividad del eje hipotálamo-hipófiso-glandular, estimulando la liberación de gonadotropinas (LH y FSH) en ambos sexos ^(12, 13). Este aumento en la actividad del eje impulsa el ciclo de retracción y desarrollo gonadal, así como la producción de las hormonas moduladoras de la reproducción, estradiol en hembras y testosterona en machos ⁽⁹⁻¹¹⁾. Esto permite a las aves mantener una adecuada sincronización de su fisiología y comportamiento reproductivo con el ciclo estacional ^(14, 15). A este último se lo puede dividir en Periodo No Reproductivo (PNR) y Periodo Reproductivo (PR).

Las variaciones en las concentraciones de testosterona y estradiol entre el PNR y PR, así como en las hormonas del cuidado parental, prolactina y progesterona, han sido ampliamente reportadas en aves ⁽¹⁶⁻²⁴⁾. Las hormonas esteroideas son transportadas principalmente por medio de la sangre. Además, su detección en plasma es utilizada para obtener de manera precisa e inmediata, los valores a los cuales están expuestos los tejidos diana ⁽¹⁸⁾. Durante el PNR, de fotoperiodo corto, la concentración de las hormonas sexuales es baja. Esta concentración se eleva a medida que el fotoperiodo comienza a alargarse, al inicio del PR. El incremento en las concentraciones plasmáticas de las hormonas moduladoras de la reproducción, lleva a cambios en la fisiología y comportamiento reproductivo, tanto de machos como de hembras. Este patrón hormonal ha sido observado en numerosas especies de aves con diferentes sistemas reproductivos (monógamos, polígamos, promiscuos, etc.) ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

Al respecto J. C. Wingfield *et al.* (1990) propusieron una relación entre el tipo de sistema reproductivo, estrategias reproductivas (número de nidadas, interacción entre machos, cuidado parental) y el perfil estacional de la hormona testosterona en machos, en lo que denominó “Hipótesis del Desafío” ⁽¹⁸⁾. Dicha hipótesis compara los niveles plasmáticos de testosterona entre el PNR y el PR (Figura 1). Además, analiza en detalle el perfil de esta hormona a través de todas las etapas del PR, que incluye desde el cortejo, hasta el cuidado parental. Durante el PNR, los machos de todas las especies, independientemente de su sistema reproductivo, poseerán concentraciones plasmáticas basales de testosterona. Por el contrario en el PR, estos niveles se encontrarán más elevados, permitiendo la espermatogénesis, el

desarrollo de caracteres sexuales secundarios y la expresión del comportamiento reproductivo. Además, en este periodo también se puede observar una variación entre la línea de base reproductiva y niveles máximos fisiológicos, alcanzados según el contexto y el individuo. Un ejemplo de esto es el grado de interacción (agresión) entre machos, el cual está determinado principalmente por el tipo de sistema reproductivo de la especie. Sin embargo el comportamiento también se ve influenciado por el temperamento del individuo y otros factores densodependientes, que hacen al contexto (Figura 1).

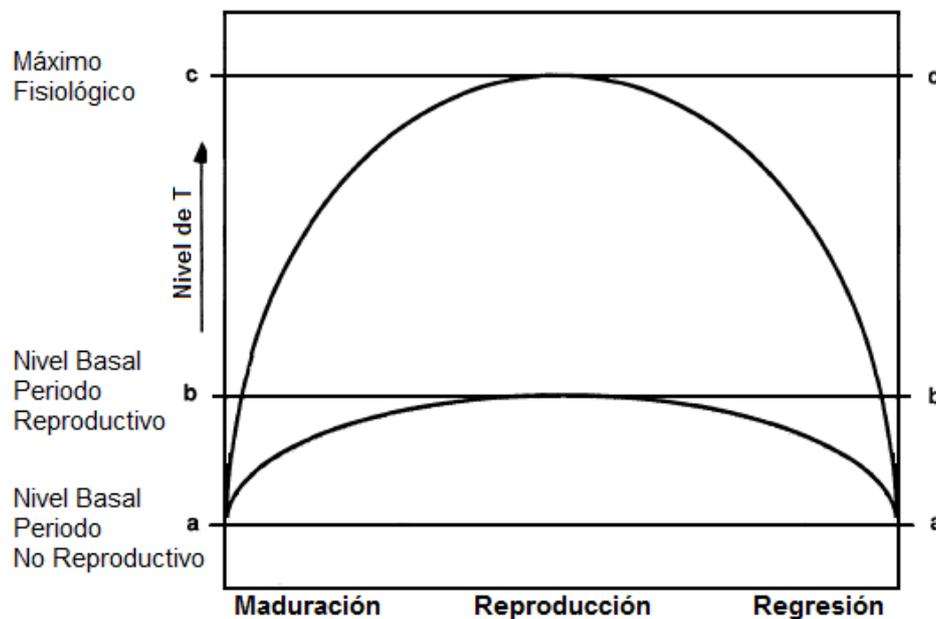


Figura 1: Niveles de testosterona en machos durante el PNR y PR. El sector por debajo de la primera curva es similar en todas las especies. El nivel basal en PNR (*a*) es cercano a cero. Nivel basal en PR (*b*) es el máximo en poblaciones estudiadas en cautiverio. Entre *b* y *c*, son valores alcanzados en respuesta a estímulos ambientales, de carácter variable. Gráfico extraído y modificado de Wingfield J. C. *et al.* 1990⁽¹⁸⁾.

Durante el PR dicha hipótesis también predice cómo serán los niveles plasmáticos de testosterona en base al sistema reproductivo de la especie y al tipo de estrategia reproductiva: nidada simple o doble; nivel de interacción entre machos (alto, moderado, bajo); y grado de cuidado parental en machos (monoparental-bajo- o biparental-alto-) (Figura 2). En el caso de machos de especies polígamas, niveles altos de testosterona durante todo el PR, inhiben el comportamiento parental (construcción del nido, incubado de huevos, suministro de alimento a la hembra mientras incubaba, cuidado de las crías, etc.). Este patrón de testosterona permite a dichos machos copular con todas las hembras receptivas durante todo el PR. Por el contrario, en machos de especies monógamas el patrón de testosterona es muy distinto. Los niveles de testosterona son elevados solo durante el establecimiento del territorio, la elección de la pareja

y la cópula. Inmediatamente después, decaen a niveles basales permitiendo el desarrollo de cuidados parentales (Figura 2).

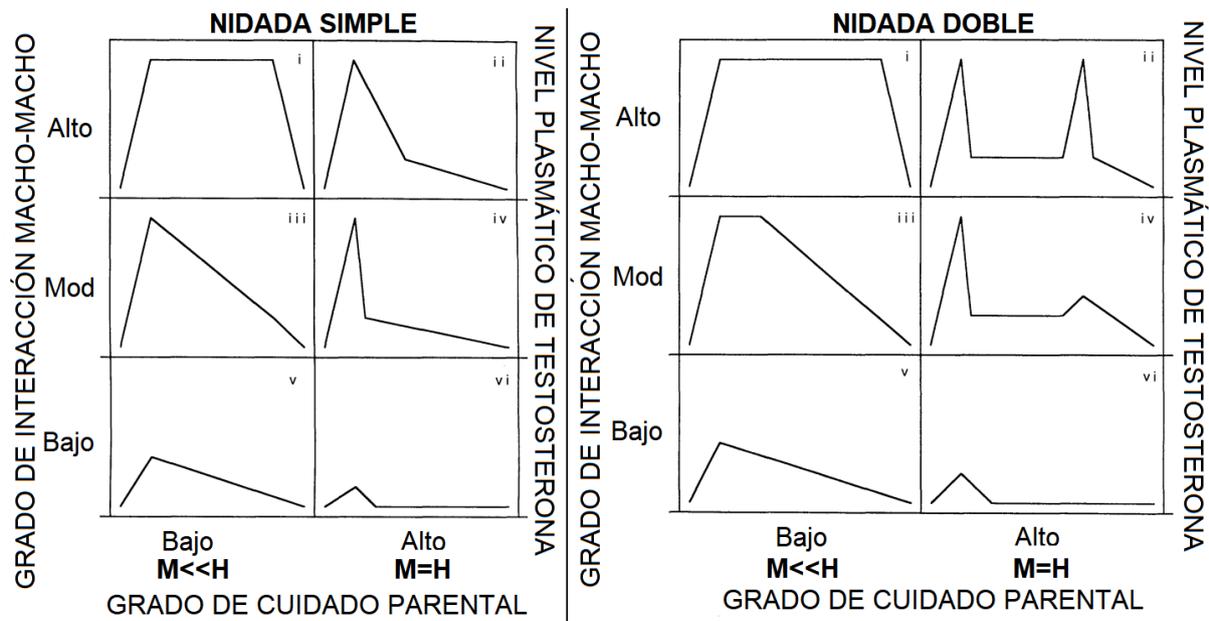


Figura 2: Distintos perfiles de testosterona en machos según número de nidadas, interacción entre machos y cuidado parental. Gráfico extraído y modificado de Wingfield J. C. *et al.* 1990 ⁽¹⁸⁾.

En base al presente marco teórico, la torcaza común (*Zenaida auriculata*) es un modelo aviar interesante para poner a prueba la Hipótesis del Desafío planteada por Wingfield *et al.* 1990. Esto se debe a que es una especie considerada plaga a nivel regional en Sudamérica, desde hace más de cuatro décadas ⁽²⁵⁾. Es causante de grandes pérdidas económicas tanto a nivel agropecuario como de mobiliario urbano ⁽²⁶⁾. Además posee importancia sanitaria por ser una posible hospedadora tanto del virus de la encefalitis de San Luis ⁽²⁷⁾, como del protozoo *Toxoplasma gondii*, causante de la toxoplasmosis ⁽²⁸⁾. Con respecto a su ecología, esta paloma presenta características típicas de especies oportunistas, como la capacidad de nidificar en una gran variedad de sitios, de manera colonial y con alta movilidad ⁽²⁹⁻³¹⁾. Posee un sistema reproductivo de tipo monógamo, en el cual ambos sexos intervienen en el cuidado parental ⁽³²⁾. Además, es posible encontrar nidos activos durante todo el año, característica que ya era común de observar en la década del 70 ⁽³³⁾. Esta particularidad de reproducción continua, podría deberse a que los machos estarían siempre en condiciones fisiológicas de reproducirse, reflejado en la poca variabilidad que poseen el peso (Figura 3) y tamaño testicular a lo largo del año. Es decir que la especie no sufre una retracción gonadal marcada como el resto de las aves en las que su reproducción está estrictamente controlada por el fotoperiodo ^(3, 34).

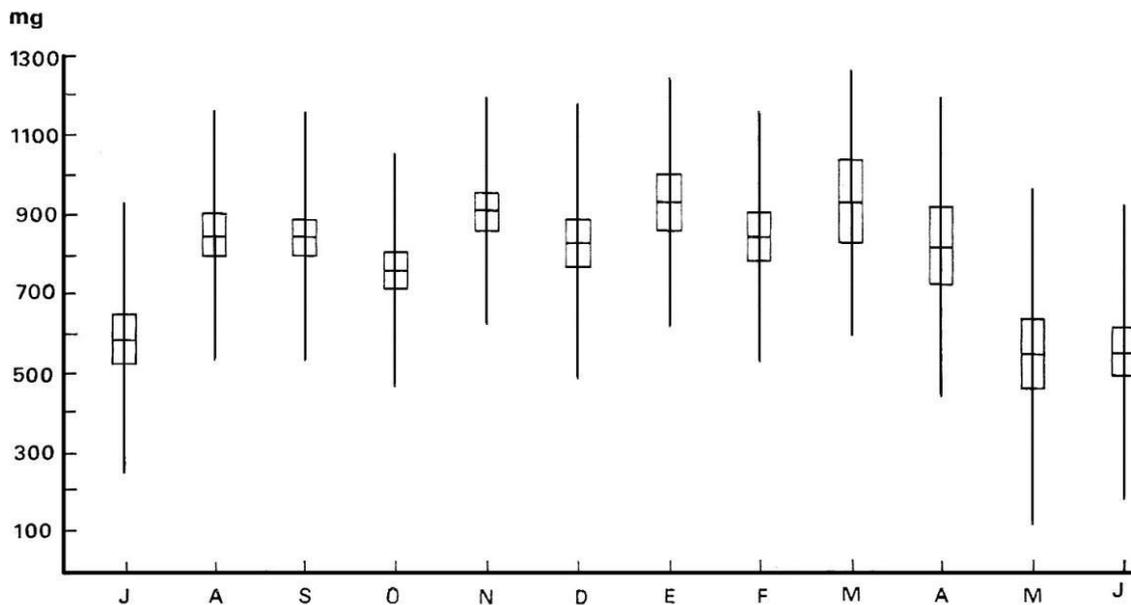


Figura 3: Peso en mg del par testicular en machos adultos de *Zenaida auriculata* a lo largo de un año. Las líneas indican el desvío estándar alrededor de la media, mientras que los rectángulos muestran el intervalo de confianza del 95%. Extraído y modificado de Bucher E. H. *et al.* 1977 ⁽³⁴⁾.

Hasta la fecha la base endocrina de la reproducción continua en la torcaza no ha sido abordada. Basándonos en la información previamente descrita, inferimos que los niveles de las hormonas sexuales no variarán de manera significativa a lo largo del año (entre PNR y PR). De ser así se contrapone a lo planteado por Wingfield en la Hipótesis del Desafío, ya que predice que en machos de especies monógamas, los niveles de testosterona solo son elevados durante el establecimiento del territorio y la cópula dentro del PR ⁽¹⁸⁾.

Conocer el perfil estacional (PNR-PR) en los niveles de hormonas sexuales de la torcaza común, en el marco de la hipótesis del desafío, ayudará a comprender en detalle la base endocrina de su exitosa capacidad reproductiva. De esta manera se podrán aplicar, a futuro, planes de manejo y control poblacional.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Determinar si la torcaza común (*Zenaida auriculata*) se ajusta a la Hipótesis del Desafío propuesta por Wingfield *et al.* 1990 ⁽¹⁸⁾.

2.2. Objetivos Específicos

Describir el perfil estacional (PNR y PR) de los niveles plasmáticos de hormonas sexuales: testosterona en machos y 17 β estradiol en hembras.

Medir el tamaño gonadal en los meses del PNR y el PR, con el fin de corroborar lo observado por Bucher *et al.* 1977 ⁽³⁴⁾.

3. Materiales y métodos

Este estudio se llevó a cabo en estricto apego al Marco Ético De Referencia Para La Investigación Biomédica: Principios Éticos Para La Investigación Con Animales de Laboratorios, Granjas Y Animales Salvajes. Además cuenta con la aprobación previa del Comité de Ética del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (Resolución No. 1047 ANEXO II, 2005) como parte del proyecto llevado a cabo por el director de la presente tesina ⁽³⁵⁾. Los permisos necesarios para la captura y posterior sacrificio, de los especímenes de *Z. auriculata*, con fines científicos, fueron otorgados por la Secretaría de Ambiente y Cambio Climático de la Provincia de Córdoba, a través de la Dirección General de Conservación de la Biodiversidad y Recursos Naturales.

3.1. Muestreo

El muestreo se llevó a cabo dentro del predio del Zoológico de Córdoba (31°25'31.79"S 64°10'29.92"O) durante las últimas dos semanas de cada mes, por un periodo de trece meses. Desde marzo de 2016 hasta marzo de 2017. Para que la muestra sea considerada representativa, se buscó capturar por lo menos 10 individuos de cada sexo por mes.

La captura de los animales se realizó mediante trampa pasiva cebada con alimento para aves ⁽³⁶⁾ en el horario de 9 a 12 horas, con el fin de evitar posibles variaciones circadianas de las hormonas a estudiar ⁽³⁷⁾. Las trampas estuvieron provistas con receptáculo de agua y fueron revisadas cada media hora.

Una vez capturados los ejemplares de torcaza, estos fueron trasladados dentro de jaulas cubiertas al laboratorio del Centro de Zoología Aplicada, ubicado dentro del Jardín Zoológico.

3.2. Sacrificio de ejemplares

Las aves fueron sacrificadas por decapitación y la sangre fue colectada en tubos tipo eppendorf de 1,5 ml, previamente heparinizados (heparina sódica 5000UI/ml, de Laboratorios Duncan) ⁽²⁴⁾.

Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 5000 rpm por 15 minutos en centrífuga refrigerada Presvac a 4°C. El plasma obtenido fue colocado en tubos eppendorf de 1,5 ml rotulados y almacenados en freezer -20°C hasta el posterior análisis hormonal ⁽¹⁶⁾.

El sexado fue realizado por inspección gonadal ^(34, 38). Las mismas fueron quirúrgicamente removidas solo en los meses de invierno (junio, julio y agosto) y primavera-verano (diciembre, enero, febrero y marzo) para comparar los PNR y PR respectivamente.

3.3. Determinación del tamaño gonadal

Una vez removidas, las gónadas fueron colocadas en una cápsula de Petri con solución fisiológica. Se rotularon y colocaron junto a una regla milimetrada, la cual fue usada como referencia para realizar las mediciones. Las gónadas fueron fotografiadas utilizando una cámara Nikon D5100, con un lente micro nikkor 55mm ai-s f:3.5. Las fotos fueron procesadas posteriormente con el programa Adobe Photoshop. Se tomaron las medidas de largo y ancho en mm de ambos testículos.

Una vez tomadas las fotografías, los órganos reproductivos fueron colocados en tubos tipo falcon de 15ml, con fijador Bouin para su conservación y posterior seccionado y tinción ⁽³⁹⁾.

3.4. Identificación hormonal

La identificación de testosterona y estradiol fue realizada por medio de la técnica de cromatografía líquida de alta precisión o HPLC (por su nombre en inglés) de fase reversa ⁽¹⁶⁾. Se utilizó un equipo marca Waters, de inyección manual con loop de 25µl y con dos detectores conectados en serie. Un detector de fluorescencia multi lambda (modelo 2475) y un arreglo de diodos (modelo 2998) para la identificación de 17β estradiol y testosterona respectivamente.

A través de esta técnica se compararon las moléculas estándar de testosterona y 17 β estradiol (SIGMA) con las moléculas presentes en el plasma de *Z. auriculata*, con el fin de ser identificadas. Se utilizaron soluciones de ambos estándares en el orden de nanogramos, preparadas con metanol grado HPLC. De ambas soluciones se inyectaron 25 μ l y se corrieron por 15 minutos para la determinación de sus respectivos tiempos de retención (TR) ⁽¹⁶⁾.

Previo a la corrida cromatográfica de las muestras, se realizó una extracción del plasma según el protocolo de extracción de esteroides sexuales Arbor Assays (Steroid Liquid Sample Extraction Protocol; info@ArborAssays.com; www.ArborAssays.com). Se tomaron 250 μ l de un pool (mezcla de plasma obtenido de diferentes individuos) de cada sexo, a los cuales se les agregó dietileter en una proporción de 1:5 del volumen plasmático. Se agitaron con vortex durante 2 minutos y se las dejó reposar para que las dos fases (acuosa abajo y orgánica arriba) se separen correctamente. Los tubos fueron introducidos en freezer -80°C para que la fase acuosa se congele. Aprovechando esta situación la fase orgánica, aún en estado líquido, se trasvasó a tubos de vidrio de 15ml rotulados. Estos fueron colocados en baño de inmersión a 45°C, bajo campana de extracción, para la evaporación del solvente. Una vez extraídas se resuspendieron en fase móvil, recuperando el volumen inicial (250 μ l). El protocolo de extracción garantiza una eficiencia de recuperación de más del 95% para ambas hormonas.

Una vez realizado este procedimiento, se inyectaron 25 μ l de plasma extraído (primero de machos y en otra corrida la de hembras) en el equipo de HPLC. Se usó una columna de fase reversa (LiChrospher 100/RP-18/5 mm; 4.66250 mm; Merk, Germany), a un flujo de 1ml/min con una fase móvil compuesta por agua y metanol en proporción 30:70. La corrida se realizó durante 15 minutos y se identificaron los picos correspondientes a los tiempos de retención indicados por los respectivos estándares. Una vez observados dichos picos, a cada muestra de pool extraído, de machos y hembras, se le realizó un *spike* de su correspondiente solución de estándar para corroborar el aumento de dicho pico.

3.5. Cuantificación hormonal

Los niveles plasmáticos de las hormonas sexuales, testosterona y 17 β estradiol, se evaluaron por medio de la técnica de radioinmunoensayo (RIA) en el laboratorio del Dr. Gustavo Somoza perteneciente al Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH-CONICET). A cada muestra se le aplicó dos veces el protocolo de extracción previamente desarrollado, esta vez resuspendidas al volumen inicial en PBS-gel.

Los anticuerpos utilizados en el inmunoensayo fueron desarrollados en conejos en el laboratorio del Dr. Niswender (University of Colorado, USA) contra estándares de testosterona y estradiol (SIGMA). La concentración utilizada fue 1:100.000 para testosterona y 1:48.000 para 17β estradiol, posteriormente diluidos en PBS-Gel. Ambos estándares estuvieron marcados con el radio isótopo ^{14}C (*Migliore Laclaustra*). Estos procedimientos se realizaron según Van der Kraak, G., Dye, H. & Donaldson, E. en 1984 ⁽⁴⁰⁾.

Previo a la cuantificación de las hormonas sexuales en plasma, se realizó un pool, tanto para testosterona como para estradiol, con el fin de ser utilizado en el ensayo de paralelismo y coeficientes de variación intra e inter ensayos. Se tomó una alícuota del pool plasmático y se realizaron diluciones seriadas, esto es 1:1-1:2-1:4 y 1:8.

Debido a la gran cantidad de muestras de testosterona, el ensayo fue dividido en dos partes. En la primera instancia se realizó un cuadruplicado del pool para calcular el Coeficiente de Variación (CV) intra ensayo. En el segundo se repitió lo mismo para el cálculo del CV entre ensayos. Por su parte, el análisis de 17β estradiol se realizó en una sola partida, motivo por el cual solo se tuvo en cuenta el CV intra ensayo.

3.6. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático Infostat ⁽⁴¹⁾ y por medio del programa Excel se realizaron los gráficos. Con respecto al tamaño gonadal, con el objetivo de determinar si existe diferencia significativa entre los testículos izquierdos y derechos de cada ejemplar, se ajustaron dos modelos lineales generalizados y mixtos. Uno para comparar el largo y otro para el ancho. Los modelos incluyeron la identidad del individuo como factor aleatorio y la lateralidad de las gónadas (izquierda y derecha) como factor fijo. Por otra parte, para determinar si el tamaño gonadal varía de manera significativa entre el PNR y el PR, se llevaron a cabo dos análisis de la varianza (ANAVA). Uno comparando el largo y otro el ancho de los testículos derechos ⁽³⁹⁾ de los individuos colectados en cada periodo. A su vez se realizó el Test LSD Fisher como método de comparación de medias.

Para determinar si los niveles de testosterona en el plasma están influenciados por el mes, se realizó un análisis de la varianza (ANAVA) transformando la variable dependiente a rangos para cumplir con los supuestos del análisis. Luego, para la comparación de medias *a posteriori* se realizó el Test LSD Fisher.

En cada análisis, para verificar el supuesto de normalidad se utilizó la Prueba de Shapiro-Wilks modificado. En el caso del ANAVA de la influencia de los meses sobre los niveles de testosterona, se reforzó este test utilizando un gráfico *Q-Q plot*. Por otra parte, para verificar el supuesto de homogeneidad de varianza se graficaron los residuos vs. predichos, y de manera formal se realizó a través del Test de Levene. En todas las comparaciones el nivel de significancia fue del 0,05%. Cabe destacar que en la figura correspondiente a los niveles de testosterona a lo largo del año (figura 8), la media \pm EE se expresan sin transformar con el fin de resaltar mayor realidad.

4. Resultados

4.1. Muestreo

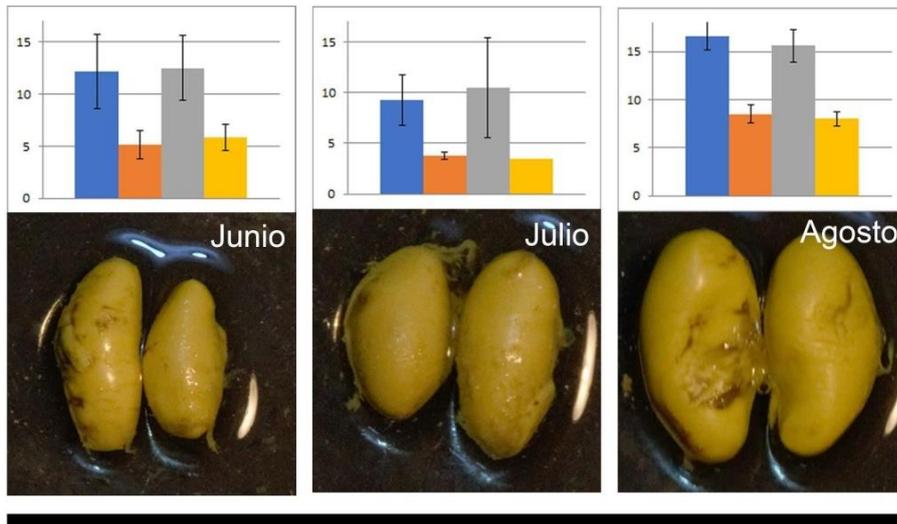
En la Tabla 1 se muestra el número de individuos de ambos sexos capturados durante los meses en los que se realizó el muestreo. En total se obtuvieron 166 machos y 152 hembras.

Tabla 1: Ejemplares de torcaza común capturados mensualmente

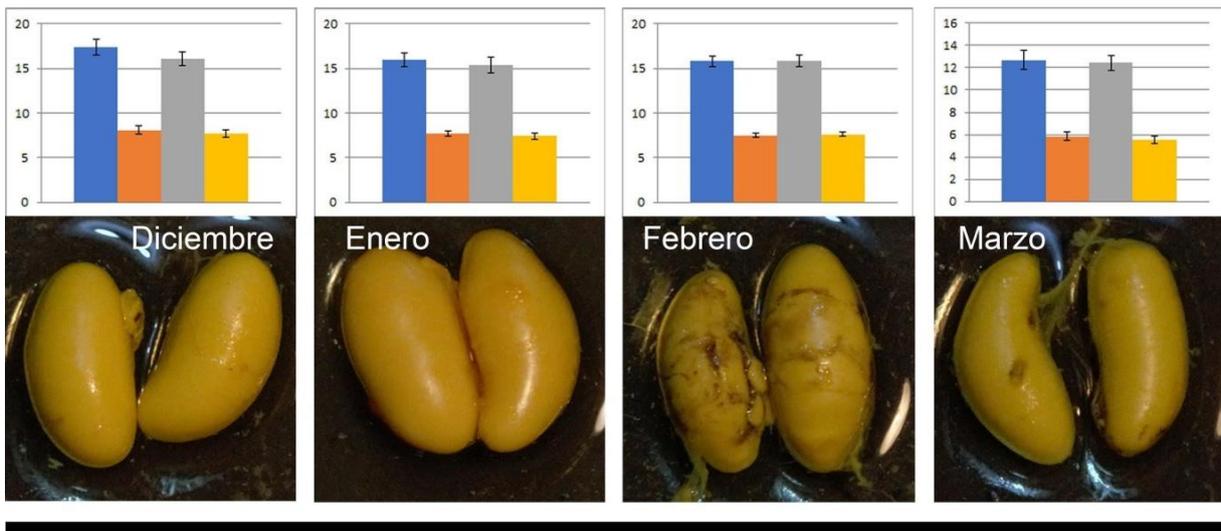
Mes	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar
n Machos	18	8	12	9	16	16	10	14	11	11	12	13	16
n Hembras	12	10	12	17	15	17	10	10	7	10	11	12	9

4.2. Determinación del tamaño gonadal

La Figura 4 muestra los tamaños del par testicular durante el PNR en invierno y el PR primavera-verano. Los gráficos de barra muestran el tamaño promedio mensual (largo y ancho) de ambos testículos expresados mm. Por medio de la utilización de modelos lineales generales y mixtos, observamos que no hay diferencias significativas tanto en el ancho ($F_{1, 54}=1,4530$ y $p=0,2333$) entre el testículo izquierdo y el derecho ($6,89\pm 0,22$ mm y $6,76\pm 0,21$ mm respectivamente) como en el largo ($F_{1, 54}=1,5936$ y $p=0,2122$) de las gónadas de cada individuo (izquierdo= $14,70\pm 0,46$ mm y derecho= $14,38\pm 0,41$ mm).



P.N.R.



P.R.

Figura 4: Imágenes del par testicular de ejemplares de torcaza común (*Zenaida auriculata*) en el PNR y PR. En los gráficos se encuentran, en el eje de las abscisas, el largo de los testículos izquierdos (azul) y derechos (gris), así como también el ancho de los testículos izquierdos (naranja) y derechos (amarillo). En el eje de las ordenadas se encuentran las dimensiones, medidas en milímetros.

Los análisis estadísticos (ANOVA) realizados indican que no existe diferencia significativa en el largo y en el ancho del testículo derecho entre PNR y PR ($F_{1, 53}=1,0144$ $p=0,3184$ y $F_{1, 53}=1,0286$ $p=0,3151$, respectivamente. Durante el PNR el largo del testículo derecho mide en promedio $13,44\pm 1,34$ mm y en el PR $14,57\pm 0,42$ mm. Mientras que de ancho en el PNR mide $6,28\pm 0,74$ mm y en el PR $6,86\pm 0,21$ mm.

4.3. Identificación hormonal

4.3.1. HPLC testosterona

Los cromatogramas correspondientes al estándar de testosterona (A) cuyo TR es de 5,30 minutos, el pool de plasma extraído (B) donde se observa un pico al TR 5,36 minutos y el pool de plasma más *spike* de estándar de testosterona (C) de TR 5,36 minutos se muestran en la Figura 5.

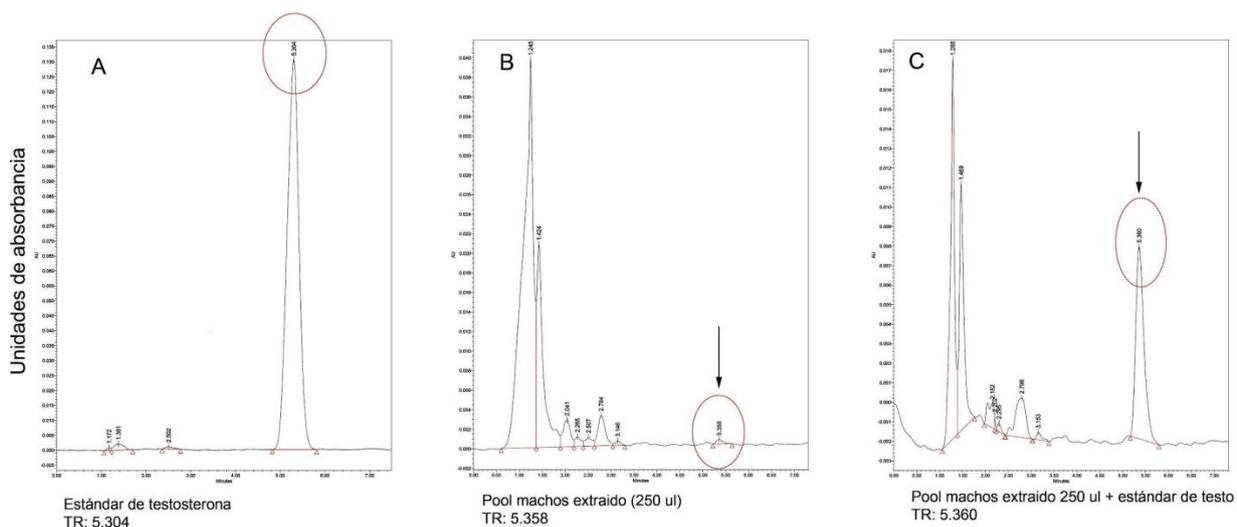


Figura 5: Cromatogramas pertenecientes al estándar de testosterona (A), pool plasmático de machos (B) y pool plasmático junto con el *spike* de estándar (C). Dentro de los círculos rojos están indicados los tiempos de retención. Las flechas indican el pico y TR en muestras de plasma y plasma más *spike* de testosterona. Los valores están expresados en unidades de absorbancia a 240nm.

4.3.2. HPLC 17 β estradiol

La Figura 6 muestra los cromatogramas correspondientes al estándar de 17 β estradiol (A) cuyo TR es de 4,80 minutos, el pool de plasma extraído (B) de TR 4,77 minutos y el pool de plasma junto con el *spike* de estándar de 17 β estradiol (C) de 4,85 minutos.

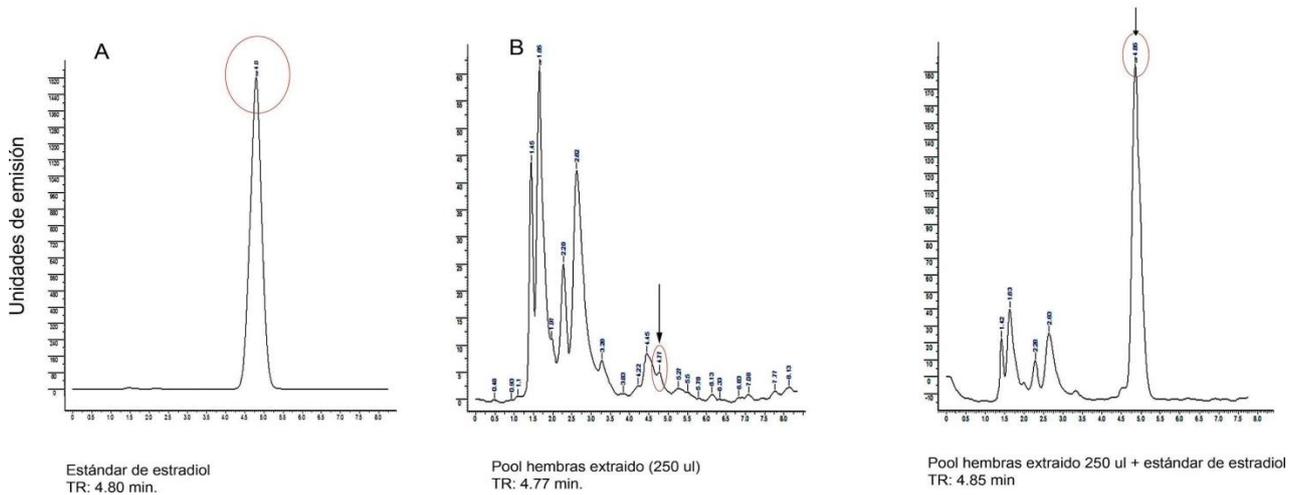


Figura 6: Cromatogramas pertenecientes a estándar de 17β estradiol (A), pool plasmático de hembras (B) y pool plasmático junto con el *spike* de estándar (C). Los tiempos de retención están indicados por el círculo rojo. Las flechas indican el pico y TR en muestras de plasma y plasma más *spike* de 17β estradiol. Los valores están expresados en unidades de emisión a 305nm.

4.4. Cuantificación hormonal

4.4.1. RIA Testosterona

La Figura 7 muestra la curva de paralelismo para testosterona, obtenido de las diluciones seriadas del pool de plasma de machos (de 1:1 a 1:8), comparado con la curva estándar marcada con ^{14}C . Se observa que los niveles de testosterona en el plasma puro (1:1) poseen porcentajes de unión de 80%.

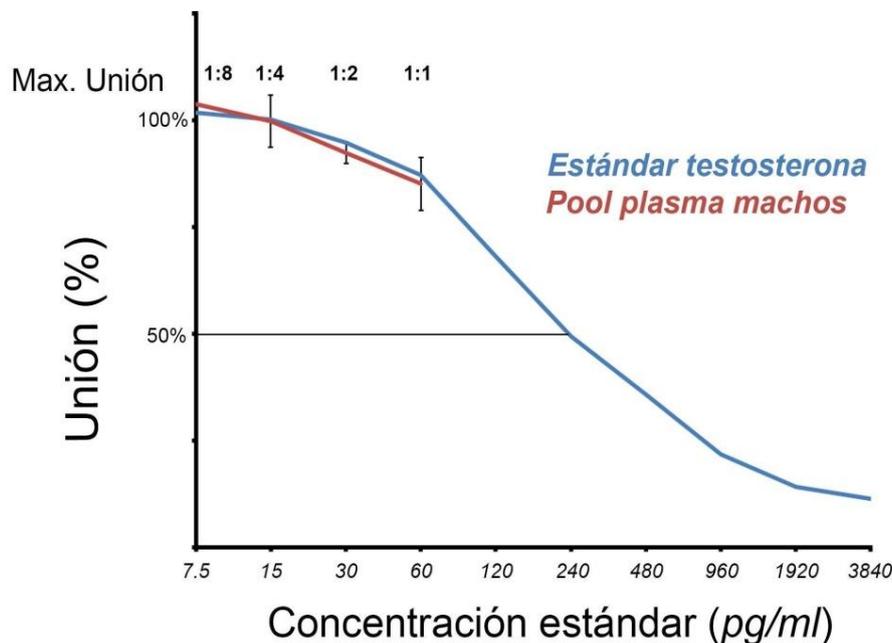


Figura 7: Curva de paralelismo entre el estándar de testosterona (azul) y pool de plasma de machos (rojo) en sus diferentes diluciones (1:1, 1:2, 1:4 y 1:8). Valores expresados en porcentajes de unión, media \pm EE.

Los niveles plasmáticos de testosterona a lo largo de los 13 meses de muestreo se indican en la Figura 8. En la misma se denota un patrón de dos picos. El primero y de mayor amplitud producido en el mes de octubre y el segundo pico de menor concentración en febrero. El valor del CV intra ensayo fue de 6.85% y el CV entre ensayos de 8.55%.

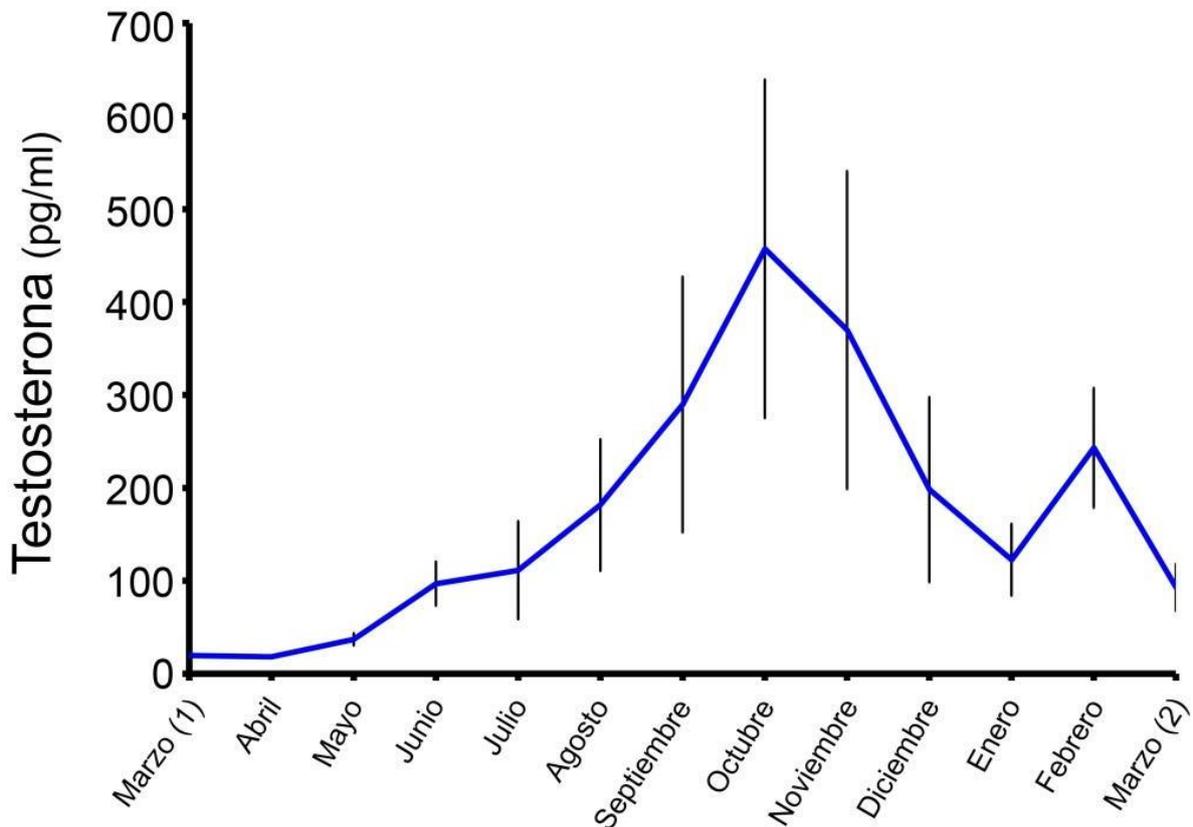


Figura 8: Niveles plasmáticos de testosterona en machos de la torcaza común a lo largo de 13 meses. Valores se expresan como media \pm EE, sin transformar (pg/ml).

El análisis estadístico indica diferencias significativas a lo largo del año ($F_{12, 153}=5,05$ $p=0,0001$). Si bien ya fue expresado en materiales y métodos nos parece necesario destacar que, debido a que no se cumplen con los supuestos del análisis, se trabajó con los valores de testosterona transformados a rangos. Mientras que gráficamente se utilizaron los valores sin transformar ya que consideramos que los mismos representan de mejor manera lo que ocurre en la realidad. A través del Test LSD Fisher, los meses se agruparon en cinco categorías. A modo de simplificar la información, se muestran las asociaciones de mayor y menor media. Los meses abril, marzo y mayo de 2016 fueron los de menor concentración de testosterona en plasma ($31,25\pm 14,93$ pg/ml, $40,08\pm 9,96$ pg/ml y $60,08\pm 12,19$ pg/ml respectivamente). En tanto que los meses que tuvieron mayores niveles fueron: junio, septiembre, octubre,

noviembre, enero y febrero ($101,78 \pm 14,08$ pg/ml; $112,9 \pm 13,36$ pg/ml; $98,32 \pm 11,29$ pg/ml; $105,91 \pm 12,74$ pg/ml; $101,5 \pm 12,19$ pg/ml y $121,38 \pm 11,72$ pg/ml respectivamente).

4.4.2. RIA 17β estradiol

Los niveles plasmáticos de la hormona 17β estradiol solo pudieron ser detectados en algunos individuos. Esto se debió a que las concentraciones medidas, la mayoría de las veces estuvieron por debajo del umbral de detección de la técnica, el cual era de aproximadamente 30,00pg/ml. Los resultados se muestran en la Tabla 2. La proporción, que se encuentra en la fila siguiente a los meses, corresponde al número de individuos a los cuales se les pudo detectar la hormona sobre el número total de hembras muestreadas por mes.

Tabla 2: Niveles plasmáticos de 17β estradiol en hembras de torcaza común

Mes	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre
Proporción	2/12	1/10	1/12	1/17	0/15	0/17	1/10
Medida (pg/ml)	64 80	73,85 -	85,89 -	148,10 -	- -	- -	68,23 -
Mes	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	
Proporción	0/10	0/7	0/10	1/11	0/11	1/9	
Medida (pg/ml)	- -	- -	- -	80,47 -	- -	72 -	

5. **Discusión**

Este trabajo aborda por primera vez el estudio de la base endocrina de la exitosa capacidad reproductiva de un columbiforme nativo de Sudamérica, la torcaza común (*Z. auriculata*). La misma es considerada plaga desde hace más de cuatro décadas, debido a los problemas que causa ⁽²⁶⁻²⁸⁾ y al aumento en su abundancia poblacional en zonas periurbanas y urbanas. Esto último está ligado a cuestiones ambientales, como el crecimiento de las áreas cultivadas, así como también a cuestiones etológicas propias de la especie, como la formación de grandes colonias y movimientos de tipo nomádico ⁽²⁵⁾. Por este motivo consideramos que los datos de su endocrinología reproductiva, aportados por el presente trabajo, sientan las bases para poder desarrollar planes de manejo y control poblacional de la especie. El presente estudio denota gran importancia ya que los resultados obtenidos son disparadores de nuevas preguntas e indagaciones sobre la ecofisiología de una especie en franca expansión.

Nuestros resultados indican una variación estacional en los niveles plasmáticos de testosterona, siendo más bajos en el PNR e incrementando durante el PR. Estos datos hormonales se ajustarían a lo planteado por Wingfield et al. (1990) en la Hipótesis del Desafío, que manifiesta que dichas diferencias se observan en todas las especies de aves, independientemente del tipo de sistema reproductivo que posean (monógamos, polígamos, poliándricos, promiscuos, etc.). A su vez va en contraposición a lo que esperábamos teniendo en cuenta los datos de reproducción continua mostrados por Bucher y Orueta en los años setenta ⁽³³⁾ y por lo cual esperábamos una concentración hormonal constante a lo largo del año. Por otra parte, dentro del PR, se observa un patrón definido de dos picos de concentración de la hormona testosterona, uno máximo en el mes de octubre y un segundo pico de menor amplitud durante el mes de febrero. Este último resultado también brindaría evidencia de que la especie se comportaría de acuerdo a lo planteado por Wingfield. La presencia de dos picos durante el PR, coincide con el perfil hormonal de una especie de ave que posee doble nidada, con machos y hembras manifestando el mismo grado de cuidado parental y con un nivel intermedio de interacción macho-macho (agresividad) (figura 2). En este sentido, la torcaza común posee un sistema reproductivo del tipo monógamo en el que los machos muestran cuidados parentales, esto es, ayudan en el incubado de los huevos y en la alimentación de los pichones por medio de la leche de buche ⁽⁴²⁾. Además el grado de interacción entre machos sería intermedio ya que solo pelearían entre sí por las hembras disponibles (observaciones personales). Sin embargo queda aún por corroborar el hecho de la doble nidada, ya que este dato no se especifica en la bibliografía analizada sobre su ecología

reproductiva. Trabajos a futuro donde se enfoquen en el monitoreo de parejas reproductivas a lo largo del PR, serán de gran importancia para corroborar si esta especie presenta o no doble nidada y si se corresponde con la curva hormonal aquí presentada.

Si bien, desde el punto de vista endócrino, la torcaza común se ajustaría a la Hipótesis del Desafío, parece haber una contradicción con los fenómenos fisiológicos de retracción gonadal, estrictamente controlados por el fotoperiodo (observado en la mayoría de las aves estudiadas). Nuestros datos, al igual que los obtenidos por Bucher ⁽³⁴⁾ muestran que la torcaza común no sufre retracción gonadal marcada en relación al fotoperiodo. Sin embargo, el perfil de testosterona reportado en el presente trabajo indica que la funcionalidad (procesos endócrinos) de sus gónadas sí está rigurosamente controlada por el fotoperiodo. Esto es un aspecto novedoso ya que la mayoría de las especies de aves estudiadas presentan un paralelismo entre el crecimiento, desarrollo gonadal y su funcionalidad, como por ejemplo lo observado el gorrión de cresta blanca (*Zonotrichia leucophrys*) ⁽⁴³⁾, el arrendajo (*Gymnorhinus cyanocephalus*) ⁽⁴⁴⁾, la codorniz californiana (*Callipepla californica*) ⁽⁴⁵⁾, los estorninos (*Sturnus vulgaris*) ⁽⁴⁶⁾, el gorrión común (*Passer domesticus*) ⁽⁴⁷⁾ y el pato azulón (*Anas platyrhyncho*) ⁽⁴⁸⁾. Los columbiformes por su parte presentan una mayor variabilidad en cuanto a este fenómeno, observándose el característico ciclo de retracción y desarrollo de las gónadas en el género *Columba*: *Columba livia* ^(39, 49), paloma de madera (*Columba palumbus*) ⁽³⁹⁾, paloma común (*Columba oenas*) ⁽³⁹⁻⁴³⁾. Situaciones de respuesta intermedia o nula se observan en el género *Columbina*: *Columbina talpacoti* ^(50, 51), *Columbina squammata* ⁽⁵¹⁾ y *Columbina minuta* ⁽⁵¹⁾. La torcaza común (*Zenaida auriculata*), además de no poseer retracción gonadal, el tamaño testicular no se correlaciona con la presencia de espermatogénesis ⁽³⁴⁾. Una situación similar es lo que ocurre en individuos del género *Streptopelia*: palomas mensajeras (*Streptopelia risoria*) ⁽⁵²⁾, *Streptopelia chinensis* ⁽⁵³⁾, *Streptopelia senegalensis* ⁽⁵³⁾. Si bien la variación estacional en el tamaño de las gónadas está relacionada con las variaciones en el fotoperiodo, en menor medida, también puede verse afectada por otros factores como la alimentación ⁽⁴⁶⁾ o la interacción macho-hembra y el estrés ⁽⁵⁴⁾. Debido a esto, queda abierto el interrogante sobre qué es lo que ocurre en la torcaza común para que sus gónadas no sufran retracción en respuesta a fotoperiodos cortos. Una posible explicación podría ser la alta disponibilidad de comida generada por las actividades humanas, lo que llevaría a un desacople entre el fotoperiodo y la regulación del desarrollo gonadal.

Por otra parte, con los resultados de 17β estradiol no fue posible realizar una curva anual ya que en muy pocas muestras se pudo determinar la concentración hormonal, debido a la sensibilidad de la técnica. A pesar de esto consideramos de gran importancia mostrar los resultados ya que representan un primer antecedente formalmente documentado del estudio endócrino en ambos sexos de esta especie. Debido a esto recomendamos para futuros estudios utilizar técnicas más sensibles o trabajar con el plasma extraído y concentrado con el fin de lograr una adecuada cuantificación. Un ejemplo podría ser la técnica de Inmunoensayo revelada por Electroquimioluminiscencia, la misma fue probada por nosotros, pero debido al elevado costo no pudimos llevar las mediciones a través de esta técnica. En el anexo se muestran los resultados.

Otro aspecto interesante que queda por abordar en la torcaza común es la presencia de fotorreceptores encefálicos en la zona hipotalámica y qué procesos metabólicos (metabolismo de las hormonas tiroideas) son los responsables del inicio de la reproducción en esta especie. Ya que factores como la retracción gonadal ⁽³⁴⁾ y la reproducción durante todo el año ⁽³³⁾, no se encontrarían regulados por el fotoperiodo. Además, será de gran ayuda la incorporación de nuevos estudios a campo que apunten al seguimiento de parejas reproductivas, con el objetivo de correlacionar los niveles plasmáticos de hormonas con las diferentes etapas del PR. Esto servirá para entender el éxito reproductivo que esta especie tiene.

6. Conclusiones

Como conclusión podemos decir que la torcaza común (*Zenaida auriculata*) se ajustaría a la Hipótesis del Desafío propuesta por Wingfield en 1990, presentando una regulación estacional de la actividad gonadal, sin correlacionarse con el tamaño de la misma.

Además en base a los resultados obtenidos en la identificación y cuantificación hormonal, podemos decir que las hormonas sexuales de la torcaza común son exactamente las mismas que las moléculas estándares y que se encuentran en concentraciones plasmáticas muy bajas (en el orden de los picogramos).

7. Agradecimientos

En el marco de la presente tesina, debido a los bajos niveles hormonales que posee la especie, hemos tenido que acudir a la colaboración de muchos grupos de trabajo. Por este motivo me parece importante destacarlos a modo de agradecimiento. En primer lugar quiero agradecer a la Dra. Marina Flavia Ponzio, perteneciente al Instituto De Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA), por realizar un primer acercamiento a los niveles hormonales de la torcaza común a través de la técnica de inmunoensayo (EIA). Agradecer también al Dr. Tomás Tempesti por facilitarnos el acceso al equipo de HPLC del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas. Al Dr. Gustavo Somoza del Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH-CONICET), por su colaboración en la cuantificación hormonal por medio de la técnica RIA.

Además agradecerle al Director del Centro de Zoología Aplicada, Dr. Gerardo Leynaud, por permitirme disponer de las instalaciones del establecimiento. A la Dra. Natalia Soledad Della Costa del Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA) por su colaboración en los análisis estadísticos del trabajo. Por último agradecer a mis ayudantes de campo Biol. Agostina Perazzo y Natalia Valinotti.

8. Bibliografía

- 1- Wingfield, J. C., Hahn, T. P., Levin, R., & Honey, P. (1992). Environmental predictability and control of gonadal cycles in birds. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 261(2), 214-231.
- 2- Sharp, P. J. (2005). Photoperiodic regulation of seasonal breeding in birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1040(1), 189-199.
- 3- Dawson, A. (2013). The effect of latitude on photoperiodic control of gonadal maturation, regression and molt in birds. *General and comparative endocrinology*, 190, 129-133.
- 4- Dawson, A. (2008). Control of the annual cycle in birds: endocrine constraints and plasticity in response to ecological variability. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 363(1497), 1621-1633.
- 5- Valdez, D. J., Nieto, P. S., Díaz, N. M., Garbarino-Pico, E., & Guido, M. E. (2013). Differential regulation of feeding rhythms through a multiple-photoreceptor system in an avian model of blindness. *The FASEB Journal*, 27(7), 2702-2712.
- 6- Halford, S., Pires, S. S., Turton, M., Zheng, L., González-Menéndez, I., Davies, W. L., Peirson, S. N., Garcia-Fernandez, J. M., Hankins, M. W. & Foster, R. G. (2009). VA opsin-based photoreceptors in the hypothalamus of birds. *Current biology*, 19(16), 1396-1402.
- 7- Nakane, Y., Ikegami, K., Ono, H., Yamamoto, N., Yoshida, S., Hirunagi, K., Ebihara, S., Kubo, Y. & Yoshimura, T. (2010). A mammalian neural tissue opsin (Opsin 5) is a deep brain photoreceptor in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(34), 15264-15268.
- 8- Wang, G., & Wingfield, J. C. (2011). Immunocytochemical study of rhodopsin- containing putative encephalic photoreceptors in house sparrow, *Passer domesticus*. *General and comparative endocrinology*, 170(3), 589-596.
- 9- Yoshimura, T., Yasuo, S., Watanabe, M., Iigo, M., Yamamura, T., Hirunagi, K., & Ebihara, S. (2003). Light-induced hormone conversion of T4 to T3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature*, 426(6963), 178-181.
- 10- Nakao, N., Ono, H., Yamamura, T., Anraku, T., Takagi, T., Higashi, K., Yasuo, S., Katou, Y., Kageyama, S., Uno, Y., Kasukawa, T., Iigo, M., Sharp, P. J., Iwasawa, A., Suzuki, Y., Sugano, S., Niimi, T., Mizutani M., Namikawa, T., Ebihara, S., Ueda, H. R. &

- Kasukawa, T. (2008). Thyrotrophin in the pars tuberalis triggers photoperiodic response. *Nature*, 452 (7185), 317.
- 11- Yoshimura, T. (2010). Neuroendocrine mechanism of seasonal reproduction in birds and mammals. *Animal science journal*, 81(4), 403-410. 15.
- 12- Maung, S. y Follet, B. (1978). The endocrine control by luteinizing hormone of testosterone secretion from the testes of the japanese quail. *General and Comparative Endocrinology*, 36, 79-89.
- 13- Brown, N., Bayle, J., Scanes, C. y Follet, B. (1975). Chicken gonadotropins: their effects on the testes of hypophysectomized japanese quail. *Cell and Tissue Research*, 156, 499-520.
- 14- Hazlerigg, D. G. & Wagner, G. C. (2006). Seasonal photoperiodism in vertebrates: from coincidence to amplitude. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 17(3), 83-91.
- 15- Ikegami, K. & Yoshimura, T. (2012). Circadian clocks and the measurement of daylength in seasonal reproduction. *Molecular and cellular endocrinology*, 349(1), 76-81.17.
- 16- Valdez, D. J., Cortez, M. V., Della Costa, N. S., Lèche, A., Hansen, C., Navarro, J. L., & Martella, M. B. (2014). Seasonal changes in plasma levels of sex hormones in the Greater Rhea (*Rhea americana*), a South American Ratite with a complex mating system. *PloS one*, 9(5), e97334.
- 17- Garamszegi, L., Eens, M., Hurtrez-Bousses, S., Møller, A. (2005) Testosterone, testes size, and mating success in birds: a comparative study. *Horm Behav* 47: 389– 409.
- 18- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty Jr., A. M., Ball, G. F. (1990) The “challenge hypothesis” theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *Am Nat* 136: 829–846.
- 19- Blas, J., López, L., Tanferna, A., Sergio, F., Hiraldo, F. (2010) Reproductive endocrinology of wild, long-lived raptors. *Gen Comp Endocrinol* 168: 22–28.
- 20- Cheng, M. F. & Silver, R. (1975). Estrogen-progesterone regulation of nest-building and incubation behavior in ovariectomized ring doves (*Streptopelia risoria*). *Journal of comparative and physiological psychology*, 88(1), 256.
- 21- Silver, R. (1984). Prolactin and parenting in the pigeon family. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 232(3), 617–625. doi:10.1002/jez.1402320330

- 22- Silver, R., Reboulleau, C., Lehrman, D. S. & Feder, H. H. (1974). Radioimmunoassay of plasma progesterone during the reproductive cycle of male and female ring doves (*Streptopelia risoria*). *Endocrinology*, 94(6), 1547-1554.
- 23- Angelier, F. & Chastel, O. (2009). Stress, prolactin and parental investment in birds: a review. *General And Comparative Endocrinology*, 163(1), 142-148.
- 24- Dawson A. (1983). Plasma Gonadal Steroid Levels in Wild Starlings (*Sturnus vulgaris*) during the Annual Cycle and in Relation to the Stages of Breeding. *General And Comparative Endocrinology* 49, 286-294.
- 25- Bucher, E. H. (1970). Consideraciones ecológicas sobre la paloma torcaza (*Zenaida auriculata*) como plaga en Córdoba. Dir. Prov. De Asuntos Agrarios de Córdoba. Serie Ciencia y Técnica 1: 1-11.
- 26- Bernardos, J. & Farrell, M. (2012). Evaluación del daño por la paloma torcaza (*Zenaida auriculata*) en girasol y pérdida de cosecha en la provincia de La Pampa, campaña 2011-2012, Estación Experimental Anguil, INTA.
- 27- Diaz, L. A., Ocelli, M., Almeida, F. L., Almiron, W. R., & Contigiani, M. S. (2008). Eared dove (*Zenaida auriculata*, Columbidae) as host for St. Louis encephalitis virus (Flaviviridae, Flavivirus). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(2), 277-282.
- 28- De Barros, L. D. (2012). Ocorrência de anticorpos e caracterização genotípica de isolados de *Toxoplasma gondii* em pombos (*Zenaida auriculata*) de vida livre capturados em Londrina, Paraná. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Campus de Jaboticabal.
- 29- Bucher, E. H. (2016). La paloma torcaza. Un problema agrícola y urbano. *Ciencia Hoy*. Grageas 148.
- 30- Bucher, E. H. & Ranvaud, R. D. (2006). Eared dove outbreaks in South America: patterns and characteristics. *Acta Zool. Sinica* 52: 564–567.
- 31- Dardanelli, S., Addy Orduna, L., & Canavelli, S. (2016). Anidamiento de paloma torcaza (*Zenaida auriculata*) en rastrojos de sorgo. *Natura Neotropicalis* 47(1) ISSN 0329-2177.
- 32- Hudson, W. H. (1929). Las palomas de la Argentina. *El Hornero*, 4(03), 289-293.
- 33- Bucher, E. H. & Orueta, A. (1977). Ecología de la reproducción de la paloma *Zenaida auriculata*. Época de cría, suceso y productividad en las colonias de nidificación de Córdoba. *Ecosur*, 4 (8):157–185.

- 34- Bucher, E. H., Gómez, E., di Tada, I. E., Reati, G. J. (1977). Ecología de la reproducción de la paloma *Zenaida auriculata*. Variaciones estacionales en peso corporal, gónadas, reservas de lípidos y muda. *Ecosur*, 4 (7):47–67.
- 35- NSTRC (National Scientific and Technical Research Council). 2005. Reference Ethical Framework for Biomedics Research: Ethical Principles for Research with Laboratory, Farm, and Wild Animals, #1047. Anexo II, Buenos Aires, Argentina: CONICET.).
- 36- Navarro, J. L., Martin, L., & Bucher, E. H. (1986). Una nueva trampa portátil para capturar palomas torcazas. *Vida Silvestre Neotropical*, 1, 79-80.
- 37- Turek, F. W., & Gwinner, E. (1982). Role of hormones in the circadian organization of vertebrates. In *Vertebrate circadian systems*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 173-182.
- 38- Bailey R. E. (1953). Surgery for Sexing and Observing Gonad Condition in Birds. *The Auk*. 70(4), 497-499
- 39- Loft, B., Murton, R. K. & Westwood, N. J. (1966). Gonadal cycles and the evolution of breeding seasons in British Columbidae. *J. Zool., Lond.* 150, 249-272.
- 40- Van der Kraak, G., Dye, H. & Donaldson, E. (1984). Effects of LH-RH and Gly10[D-Ala6] LH-RH ethylamide on plasma sex steroid profiles in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 55: 36-45
- 41- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, Y. C. (2011). InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>, 8, 195-199.
- 42- Bucher, E. H. & Nores, M. (1973). Alimentación de pichones de la paloma *Zenaida auriculata*. *El Hornero* 11 (3): 209-216.
- 43- Follett, B. K. (1984). Birds. In "Marshall's Physiology of Reproduction" (G. E. Lamming, ed.), Vol. 1, pp. 283-350. Churchill-Livingstone, Edinburgh.
- 44- Ligon, J. D. (1978). Reproductive Interdependence of Pinon Jays and Pinon Pines. *Ecological Monographs*, 48(2), 111–126.
- 45- Leopold, A. S. (1985). *The california quail*. Univ of California Press.
- 46- Dawson, A., Talbot, R. T., Dunn, I. C. & Sharp, P. J. (2002). Changes in Basal Hypothalamic Chicken Gonadotropin-Releasing Hormone-I and Vasoactive Intestinal Polypeptide Associated with a Photo-Induced Cycle in Gonadal Maturation and Prolactin Secretion in

- Intact and Thyroidectomized Starlings (*Sturnus vulgaris*). *Journal of Neuroendocrinology*, Vol. 14, 533–539.
- 47- Menaker, M., & Keatts, H. (1968). Extraretinal light perception in the sparrow. II. Photoperiodic stimulation of testis growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 60, 146–151.
- 48- Benoit, J. (1964). The role of the eye and of the hypothalamus in the photostimulation of gonads in the duck. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 117, 204–216)
- 49- Maruch, S. M. G., Teles, M. E. O. & Ribeiro, M. G. (1995). Morphological study of the testes of the dove *Columba livia* (gmelin) (columbidae, columbiformes). *Revta bras. Zool.* 12 (1): 145 - 150.
- 50- Maruch, S.M.G., Teles, M.E.O. & Ribeiro, M.G. (1991). Estudo morfológico do testículo de *Columbina talpacoti* (Temminck, 1811). Columbidae - Columbiforme. *Rev. Bras. Cienc. Morfol.* 8: 72-76
- 51- Bosque, C., Pacheco, M. A. & García-Amado, M. A. (2004). The annual cycle of *Columbina* ground-doves in seasonal savannas of Venezuela. *J. Field Ornithol.* 75(1): 1–17
- 52- Balthazart, J., Reboulleau, C. & Cheng, M.F. (1981). Diurnal Variations of Plasma FSH, LH, and Testosterone in Male Ring Doves Kept under Different Photoperiods *General And Comparative Endocrinology* 44, 202-206
- 53- Frith, H. J., Mckean, J. L. & Braithwaite, L. W. (1976). Sexual cycles and food of the doves *Streptopelia chinensis* and *S. senegalensis* in Australia. *Emu* 76: 15-24
- 54- Cully, J. F., & Ligon, J. D. (1986). Seasonality of Mobbing Intensity in the Pinyon Jay. *Ethology*, 71(4), 333–339.

9. Anexo

En una primera etapa exploratoria realizamos una colaboración con la Dra. Marina Flavia Ponzio del INICSA-CONICET, de la Facultad de Ciencias Médicas con quien llevamos a cabo pruebas de dosaje de testosterona y estradiol en pools de plasma de machos y hembras de la torcaza común por medio de la técnica de inmunoensayos revelada con peroxidasa. La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos para plasma puro y diluciones 1:2, 1:4 y 1:8. Tanto para testosterona como para estradiol los valores de porcentaje de unión del plasma puro son muy altos, lo que indica una muy baja concentración.

MUESTRA	N° MUESTRA LAB.	E2			Testo		
		CONCENTRACION E2	CONCENTRACION E2 (ng/ml)	% BINDING E2	CONCENTRACION Testo	CONCENTRACION Testo (ng/ml)	% BINDING Testo
POOL ♂	puro				0.1710	0.1710	80.17
	01:02				--	--	101.16
	01:04				--	--	102.13
	01:08				--	--	104.20
POOL ♀	puro	0.5596	0.5596	59.82			
	01:02	0.0786	0.1572	80.12			
	01:04	0.0834	0.3336	79.15			
	01:08	0.0358	0.2864	85.58			

Posteriormente se determinaron las concentraciones de las hormonas sexuales por medio de la técnica de inmunoensayos revelada por electroquimioluminiscencia en el laboratorio de análisis clínicos veterinarios C.I.B.E.V de la Ciudad de Córdoba. El altísimo costo de las determinaciones imposibilitó la realización de la totalidad de las muestras plasmáticas de la torcaza común. Los valores obtenidos nuevamente ponen de manifiesto los bajos niveles de dichas hormonas presentes en el plasma. A continuación se muestran los resultados.



Fecha: **171009 - 55**

Paciente: **PALOMA HEMBRA 1**

Propietario:

Sexo / Raza / Edad:

Veterinaria: **CENTRO DE ZOOLOGÍA APLICADA**

Endocrinología

Valor de Referencia

		Anestro	Proestro	
Estradiol Plasmático	140 pg/ml	5 - 10	50 - 100	Pg/ml

Paciente: **PALOMA HEMBRA 2**

Propietario:

Sexo / Raza / Edad:

Veterinaria: **CENTRO DE ZOOLOGÍA APLICADA**

Endocrinología

Valor de Referencia

		Anestro	Proestro	
Estradiol Plasmático	27.0 pg/ml	5 - 10	50 - 100	Pg/ml



Vieytes 271 | Alberdi | Córdoba | Teléfonos 4804692 - 4380767 | labcibev@gmail.com

Fecha: **171009 - 57**
Paciente: **PALOMA MACHO 1**
Propietario:
Sexo / Raza / Edad:
Veterinaria: **CENTRO DE ZOOLOGÍA APLICADA**

Endocrinología	Valor de Referencia	Caninos	Felinos
		Testosterona	0.54 ng/dl

Fecha: **171009 - 57**
Paciente: **PALOMA MACHO 2**
Propietario:
Sexo / Raza / Edad:
Veterinaria: **CENTRO DE ZOOLOGÍA APLICADA**

Endocrinología	Valor de Referencia	Caninos	Felinos
		Testosterona	0.36 ng/dl