



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRICOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HECES Y ANÁLISIS DE
HÁBITOS ALIMENTICIOS DE CARNÍVOROS EN LA
RESERVA DE LA BIÓSFERA “SIERRA DEL ABRA
TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.**

HÉCTOR EDUARDO BENÍTEZ ALEMÁN

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

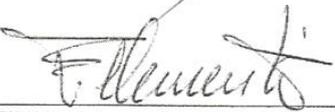
La presente tesis titulada **Identificación molecular de heces y análisis de hábitos alimenticios de carnívoros en la Reserva de la Biósfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.**, realizada por el alumno **Héctor Eduardo Benítez Alemán** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

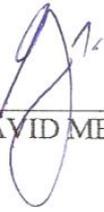
MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: 
DR. LUIS ANTONIO TARANGO ARÁMBULA

DIRECTOR DE TESIS: 
DR. OCTAVIO CÉSAR ROSAS ROSAS

ASESOR: 
DR. FERNANDO CLEMENTE SÁNCHEZ

ASESOR: 
DR. GERMÁN DAVID MENDOZA MARTÍNEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HECES Y ANÁLISIS DE HÁBITOS ALIMENTICIOS DE CARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIÓSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.

Héctor Eduardo Benítez Alemán, M. en C.

Colegio de postgraduados, 2014

La identificación precisa de heces de carnívoros silvestres es importante para describir sus hábitos alimenticios, sobre todo en aquellas especies elusivas o en riesgo. Sin embargo Identificar las heces de especies de carnívoros simpátricos no es una tarea sencilla. Por ello, las técnicas moleculares, son herramientas que brindan mayor precisión en la identificación de heces. El análisis de hábitos alimenticios aporta información valiosa para entender la estructura poblacional de los depredadores y sus presas, así como su importancia ecológica para generar estrategias de manejo y conservación de carnívoros y sus presas. Los objetivos de este estudio fueron identificar las heces de carnívoros extrayendo ADN mitocondrial de estas y amplificando un fragmento del gen citocromo b mediante un protocolo basado en la reacción en cadena de la polimerasa y polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP), así como analizar su contenido para la identificación de presas consumidas. Con el PCR-RFLP se identificaron 108 muestras de 125 recolectadas en campo, de ellas, 82 fueron de ocelote (*Leopardus pardalis*), 11 de zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), 6 de puma (*Puma concolor*), 6 de jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y 3 de margay (*Leopardus wiedii*) respectivamente. En general, las especies presa consumidas fueron mamíferos menores a 2 kg. Las presas más importantes para el ocelote fueron el conejo (*Sylvilagus floridanus*), para el puma el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). El índice estandarizado de la amplitud del nicho de Levins, indicó que el tigrillo fue el consumidor más especializado, mientras que el índice de Pianka identificó que el ocelote y la zorra gris presentaron el mayor solapamiento (0.78) compartiendo notablemente su preferencia por el conejo. Este trabajo es el primero realizado para identificar la dieta de pequeños carnívoros en la RBSAT y servirá como base para generar estrategias de conservación y manejo de estos carnívoros.

Palabras clave: ADN mitocondrial, citocromo b, PCR-RFLP, hábitos alimenticios, carnívoros.

**MOLECULAR IDENTIFICATION OF FECES AND ANALYSIS OF
CARNIVORE FOOD HABITS IN "SIERRA DEL ABRA TANCHIPA"
BIOSPHERE RESERVE, SAN LUIS POTOSI, MEXICO.**

Héctor Eduardo Benítez Alemán, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2014

Accurate identification of feces of wild carnivores is important to describe their food habits, especially those at risk or elusive species. However, morphometric identification of feces like those of sympatric carnivores is not easy. Therefore, molecular techniques are tools that provide greater accuracy in identifying stool. Analysis of food habits provides valuable information to understand the population structure of predators and prey, as well as its ecological importance to develop management and conservation strategies of carnivores and their prey. The objectives of this study were to identify the feces of carnivores extracting mitochondrial DNA and amplifying a fragment of the cytochrome b gene using a protocol based in the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR- RFLP) and analysis content for the identification of prey consumed. With the PCR-RFLP, we identified 108 of 125 scats collected in the study area, of which, 82 were of ocelot (*Leopardus pardalis*), 11 of gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*), 6 of puma (*Puma concolor*), 6 of jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), and 3 of margay (*Leopardus wiedii*), respectively. In general, the most common prey mammals consumed were lower than 2 kg. The most important prey for ocelot was the rabbit (*Sylvilagus floridanus*), and white-tailed deer for puma (*Odocoileus virginianus*). The standardized index of niche breadth of Levins results suggest that the ocelot was a specialist consumer, whilst the index of Pianka identified that the ocelot and the gray fox showed the higher overlap (0.78) markedly sharing their preference for rabbit. This work is the first study to identify the diet of small carnivores in RBSAT and serve as the basis for generating conservation strategies and management of these carnivores.

Keywords: mitochondrial DNA, cytochrome b, PCR-RFLP, food habits, carnivores

AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca de maestría otorgada para la realización de este proyecto, sobre todo por la importancia que esto implica en la investigación en México. Al Colegio de Postgraduados, por permitirme formar parte de esta institución.

Al Dr. Luis Tarango, mi consejero, por apoyarme en la realización de este proyecto y estar al pendiente de los avances del mismo. Al Dr. Octavio Rosas, director de esta tesis, quien me permitió ser parte de su grupo de trabajo y quien inculcó en mí el gusto por los carnívoros silvestres.

Al Dr. Fernando Clemente, por sus enseñanzas durante mi estancia en la maestría quien amplió mi panorama sobre el aprovechamiento sustentable de la fauna silvestre y por ser parte de mi consejo, al igual que el Dr. Germán Mendoza, a ambos por las recomendaciones al escrito.

Al Dr. Cesar Cortez, Dra. Reina Rojas y Dr. Juan García, quienes me apoyaron en todo momento en los trabajos de laboratorio. A la Facultad de Ciencias UNAM, al Zoológico de Chapultepec y al M.C. Agustín Villordo, por las muestras facilitadas para este estudio.

Al director de la reserva Ing. Alejandro Durán, por las facilidades otorgadas para el desarrollo del proyecto.

A la gente que nos acompañó en campo como guías, Hermelindo Guzmán, Martín Aguilar y Luis Enrique Martínez, quienes nos mostraron todo lo que pudieron sobre la reserva. Luis Enrique, gracias por el alojamiento otorgado en cada salida a campo. Este trabajo no hubiese sido exitoso sin su colaboración.

A mi familia, Engracia Cabrera, Alfonso Benítez, Sergio Benítez, Roció Benítez, por estar de alguna forma pendientes de mí.

A mí madre, que aunque no está conmigo sé que estaría feliz por este nuevo logro, a mi padre José Benítez y mi hermana Jacqueline con quienes comparto este momento. A mis sobrinos Yasmin, Isaac y Erik.

A mis amigos Abraham, Alan y Gmelina, por su compañía, risas, pláticas y momentos memorables que siempre recordaremos, espero que esta amistad perdure y sigamos acumulando experiencias en lo personal, académico y laboral.

A mis compañeros de laboratorio Abimael, Moisés y Javier quienes me apoyaron en el laboratorio y resolvieron todas mis dudas.

A la familia Alanís Manríquez, Sr. Jesús, Sra. Ana, Erik y Jesús, quienes me han apoyado infinidad de veces en muchos aspectos y en diversas ocasiones, haciéndome sentir parte de su familia.

Y especialmente quiero agradecer a Erika Claudia Alanis Manríquez, por su apoyo y amor en cada momento, por aguantarme y comprenderme, por ayudarme a buscar siempre más y más, por la vida que llevamos juntos y por la vida que llevaremos juntos. “Te amo por siempre flaquita”.

“Las especies que sobreviven no son las más fuertes, ni las más rápidas, ni las más inteligentes; sino aquellas que se adaptan mejor al cambio”.

Charles Darwin (1809-1882)

CONTENIDO.

AGRADECIMIENTOS.	iv
1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Importancia de los Mesocarnívoros	2
1.2 Escatología molecular	4
1.3 ADN mitocondrial y gen citocromo b	5
1.4 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	5
1.5 PCR- Polimorfismos en la Longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)----	6
1.6 Análisis de hábitos alimenticios	7
2 ANTECEDENTES.	8
2.1 Extracción de ADN e identificación de heces de carnívoros silvestres	8
2.2 Hábitos alimenticios de mesocarnívoros	11
3 OBJETIVOS.....	15
3.1 Objetivos generales.	15
3.2 Objetivos particulares	15
4 ÁREA DE ESTUDIO.	15
5 LITERATURA CITADA	17
6 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HECES DE MESOCARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA SIERRA DEL ABRA TANCHIPA, SAN LUIS POTOSÍ, MEXICO.	27
6.1 RESUMEN	27
6.2 INTRODUCCIÓN.....	27
6.3 MATERIALES Y MÉTODOS	30
6.3.1 Extracción y amplificación de ADN.....	30
6.3.2 PCR-RFLP	32
6.3.3 Geles de agarosa.	33
6.4 RESULTADOS.	33
6.4.1 Extracción y amplificación de ADN.....	33
6.5 DISCUSIÓN.	41
6.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
6.7 LITERATURA CITADA.	46

7	ANÁLISIS DE LA DIETA DE MESOCARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.-----	49
7.1	RESUMEN -----	49
7.2	INTRODUCCIÓN-----	49
7.3	MATERIALES Y MÉTODOS -----	51
7.3.1	Recolecta de muestras.-----	51
7.3.2	Identificación de las especies presa-----	52
7.3.3	Análisis de datos.-----	52
7.4	RESULTADOS -----	55
7.5	DISCUSIÓN-----	62
7.6	CONCLUSIONES.-----	67
7.7	LITERATURA CITADA-----	68
8	APÉNDICE.-----	72
8.1	Patrones medulares de pelos de guardia de presas de carnívoros.-----	72

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1. POLÍGONO DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA” SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO	16
FIGURA 2. ADN DEGRADADO EXTRAÍDO DE LAS HECES RECOLECTADAS.....	33
FIGURA 3. AMPLIFICACIÓN CON “PRIMER” ESPECIFICO DE FELINOS DEL ADN EXTRAÍDO DE MUESTRAS FECALES	34
FIGURA 4. AMPLIFICACIÓN CON “PRIMER” NO ESPECÍFICO DEL ADN EXTRAÍDO DE MUESTRAS FECALES.....	34
FIGURA 5. AMPLIFICACIÓN CON “PRIMER” NO ESPECÍFICO DE MUESTRAS FOLICULARES..	35
FIGURA 6. AMPLIFICACIÓN CON “PRIMER” ESPECÍFICO DE MUESTRAS FOLICULARES.....	35
FIGURA 7. PATRONES DE CORTE CREADOS POR LAS ENZIMAS DE RESTRICCIÓN <i>HPAII</i> , <i>HAEII/MBOI</i> PARA CUATRO ESPECIES DE FELINOS	37
FIGURA 8. IDENTIFICACIÓN DE FELINOS CON <i>HPAII</i>	38
FIGURA 9. IDENTIFICACIÓN DE FELINOS CON <i>HAEII/MBOI</i>	38
FIGURA 10. PATRONES DE CORTE CREADOS POR LAS ENZIMAS DE RESTRICCIÓN <i>MLUC I</i> Y <i>HAE II/MBO I</i> PARA SECUENCIAS GENERADAS POR EL “PRIMER” NO ESPECÍFICO.	39
FIGURA 11. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES CON <i>MLUCI</i>	40
FIGURA 12. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES CON <i>HAEIII/MBOI</i> DE IZQUIERDA A DERECHA	40
FIGURA 13. PORCENTAJE DE MUESTRAS IDENTIFICADAS POR PCR-RFLP POR ESPECIE DE MESOCARNÍVOROS.	40
FIGURA 14. SITIOS DE RECOLECTA EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.....	51
FIGURA 15. FRECUENCIA DE OCURRENCIA DE PRESAS PARA CINCO DEPREDADORES EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO... ..	55
TABLA 1. FRAGMENTO DE LA SECUENCIAS DEL GEN CITOCROMO B OBTENIDAS DE LA AMPLIFICACIÓN DE ADN DE FOLÍCULOS DE 9 ESPECIES DE CARNÍVOROS.....	36
TABLA 2. ESPECIES DE PRESAS ENCONTRADAS HECES DE CARNÍVOROS DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO, RECOLECTADAS DURANTE 2011-2012.	57
TABLA 3. BIOMASA Y NÚMERO RELATIVO DE INDIVIDUOS CONSUMIDOS POR EL OCELOTE EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA” SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.	58

TABLA 4. BIOMASA Y NÚMERO RELATIVO DE INDIVIDUOS CONSUMIDOS POR EL PUMA EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA” SAN LUIS POTOSÍ, MEXICO....	60
TABLA 5. BIOMASA CONSUMIDA POR TRES ESPECIES DE CARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA” SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO	61
TABLA 6. ÍNDICE ESTANDARIZADO DE LA AMPLITUD DEL NICHOS DE LEVINS Y SOLAPAMIENTO DEL NICHOS DE PIANKA PARA 5 ESPECIES DE CARNÍVOROS.	61

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Los estudios sobre carnívoros pequeños o medianos (mesocarnívoros) en México son extensos, principalmente sobre su taxonomía y distribución. Sin embargo, por ser los mesocarnívoros un grupo muy diverso, los estudios sobre su genética y composición de dieta son insuficientes. Muchos de estos mamíferos medianos tienen una amplia distribución en el continente americano, y principalmente en México, como el ocelote (*Leopardus pardalis*), el tigrillo (*Leopardus wiedii*), el jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), el coyote (*Canis latrans*) y la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*).

Particularmente el ocelote, el tigrillo y el jaguarundi, se encuentran sujetas a protección nacional (NOM-059-SEMARNAT-2010) bajo la categoría de “En Peligro de Extinción” (ocelote y tigrillo) y en la de “Amenazada” (jaguarundi), e internacionalmente están incluidas en la Lista Roja de la IUCN (*International Union for Conservation of Nature*)

El análisis e identificación de muestras recolectadas mediante muestreos no invasivos, es un objetivo de la “escatología molecular”, la cual busca obtener la mayor información genética del sujeto, especie, e inclusive de las poblaciones bajo estudio mediante técnicas moleculares de extracción de ADN. Identificar las heces de manera precisa, es el principal objetivo de la escatología molecular y es útil a la vez para describir la composición de la dieta del carnívoro de quien proviene la muestra.

Tradicionalmente, la identificación de las especies a través de heces, se realizaba relacionando huellas y rascaderos territoriales. Para reducir el margen de error en el proceso de identificación de las heces se realizaban también comparaciones métricas de sus características (grosor, largo y constricciones específicas de las heces de cada especie). Posteriormente se realizaron análisis de ácidos biliares con cromatografía de capa fina; sin embargo, persistían errores de identificación sobre todo para distinguir entre las heces de especies simpátricas como el jaguar y el puma.

La técnica más utilizada para determinar la dieta de vertebrados silvestres consistía en tomar muestras después del proceso digestivo, a través de métodos indirectos no invasivos (recolecta y análisis de excretas). En este proceso, las presas se identifican

mediante restos no digeridos, principalmente pelos que presentan un patrón medular fácilmente observable transparentando los pelos con xilol, y observándolos al estereoscopio. Los restos de las posibles especies como dientes o mandíbulas se registran y cuentan para determinar el número de individuos presa en cada muestra. Este método es ampliamente utilizado por no ser destructivo y en especies difíciles de observar, como los carnívoros, organismos crípticos, crepusculares o nocturnos y que evitan la presencia de los humanos.

En este trabajo se identificaron mediante el método de PCR-RFLP muestras de heces de cinco especies de carnívoros simpátricos recolectadas con técnicas no invasivas en la porción oeste de la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México. El análisis de las heces se realizó en las instalaciones del laboratorio de biología molecular en el programa de fitopatología del Colegio de Postgraduados. La identificación de las especies de mamíferos presa en la dieta de estas cinco especies, se realizó en primera instancia con una intensa revisión bibliográfica, a través de muestras conocidas de pelo proporcionado por la Colección Mastozoológica de la Facultad de Ciencias de la UNAM y comparando las muestras problema con el material de referencia del Laboratorio de Ecología de la Facultad de Biología en la Universidad de Puebla de la BUAP. Este trabajo forma parte de un proyecto multidisciplinario, que contempla la distribución del ocelote y sus patrones de actividad en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

Con el fin de preservar los hábitat naturales de la región y los ecosistemas más frágiles, así como conservar la diversidad genética de las especies de flora y fauna de esta zona, asegurar el equilibrio y la continuidad de sus procesos evolutivos y ecológicos, es necesario generar más conocimientos a través de la investigación de las especies que habitan en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”; como estudios de escatología, para la identificación de heces y la descripción de hábitos alimenticios de carnívoros, que son importantes en la ecología de los vertebrados .

1.1 Importancia de los Mesocarnívoros

Los depredadores son animales altamente especializados para la captura de sus presas, los mamíferos del Orden Carnívora se caracterizan por una dentadura con molares

filosos y caninos muy desarrollados para cortar y triturar (Ceballos 2005) .Este orden incluye 245 especies terrestres recientes, agrupadas en 107 géneros y 13 familias (Wilson, 2009), siendo la familia Felidae la más especializada morfológicamente (Aliaga-Rossel *et al* 2006). Además las especies en este orden desempeñan un papel ecológico importante ya que influyen no sólo en la abundancia de las poblaciones de especies presa, sino también en la dinámica y diversidad de la comunidad vegetal en el ecosistema (Wang Ellen. 2002; Sánchez *et al* 2004).

Los carnívoros de talla mediana (<20 kg) son más numerosos que los grandes carnívoros como el jaguar y el puma, difieren además con estos en riqueza, abundancia, comportamiento y ecología ya que su tamaño les permite además prosperar en hábitats diversos. Sin embargo, estas especies, a pesar de su importancia, han recibido poca atención (Emmons, L.H. 1988; Roemer *et al*, 2009).

Dentro de los mesocarnívoros destaca el ocelote, *Leopardus pardalis* (Linné, 1758), el tigrillo, *Leopardus wiedii* (Schinz, 1821) y el jaguarundi, *Puma yagouaroundi* (É. Geoffroy Saint-Hilare, 1803). Estas especies se distribuyen en una gran variedad de hábitats (Bianchi,*et al.* 2011). Los cánidos con amplia distribución en el continente americano, son el coyote, *Canis latrans* (Say, 1823) y la zorra gris, *Urocyon cinereoargenteus* (Schreber, 1775), son especies simpátricas y comparten diferentes hábitats generando confusiones al identificar morfológicamente sus heces (Zuercher *et al*, 2003). La distribución histórica de estas especies abarca para el ocelote desde el este y centro de Texas, oeste de Louisiana, sur de Arkansas y Arizona en los Estados Unidos hasta Paraguay y el norte de Argentina (Villa-Meza *et al*, 2002, Haines A. *et. al.* 2006); se les encuentra además en una gran variedad de hábitats desde los bosques tropicales húmedos hasta las zonas áridas y matorral (Delibes, *et al* 2010), y llegan a preferir las mismas especies presa.

En México el ocelote se encuentra en las costas del golfo y del pacifico, y en toda la península de Yucatán (De Villa, 1998; Ceballos, 2005); el tigrillo se distribuye desde el sur de Texas en Estados Unidos, Tamaulipas y Sinaloa, por las costas del golfo y del pacifico hasta el norte de Uruguay y Argentina y puede estar fuertemente asociado con áreas de bosque (Oliveira, 1998; Bianchi *et al*, 2011). La distribución del jaguarundi comprende desde el sur de Texas, en Estados Unidos y en México se distribuye en las costas del golfo

y pacífico hasta Perú, sur de Brasil y Paraguay, hasta Buenos Aires y Rio Negro en Argentina (Oliveira, 1998; Bianchi *et al*, 2011); la zorra gris habita desde el extremo sur de Canadá hasta el norte de Venezuela y Colombia, salvo las montañas del noroeste de Estados Unidos y el oriente de América Central. (Fritzell and Haroldson, 1982), el coyote tiene una distribución completamente neártica, actualmente se le encuentra desde el norte de Alaska hasta América central en Costa Rica (Bekoff, 1977) y más hacia el sur en bosques fragmentados (Cove *et al*, 2012).

La fragmentación y la pérdida del hábitad, además de la cacería furtiva por el aumento en la demanda de pieles, son las principales causas por las que el Ocelote, el tigrillo y el jaguarundi estén en la categoría de peligro de extinción por la IUCN (Unión Internacional para la conservación de la Naturaleza). Asimismo, forman parte del Apéndice I de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres). Particularmente en México, el ocelote y el tigrillo son especies de felinos neotropicales en peligro de extinción, y el jaguarundi una especie amenazada (Norma Oficial Mexicana, 2010).

1.2 Escatología molecular

Diferenciar las excretas de algunos felinos simpátricos es complicado, debido a su gran semejanza. Aranda (2012) realizó una caracterización de estos rastros de acuerdo con su tamaño y forma, y menciona que las heces de tigrillo, ocelote y jaguarundi se confunden dadas sus características morfológicas semejantes. Como respuesta a estos problemas de identificación, surgió la Escatología Molecular (Molecular Scatology), término acuñado por Reed *et al* (1997) cuya base es el análisis de ADN extraído de células diploides exfoliadas en las heces de la mucosa gastrointestinal (Albaugh *et al*. 1992). Estos análisis genéticos se enfocan a identificar especies, (Naidu *et al*, 2012), describir características poblacionales como su tamaño, (Bellemain 2005; Curteanu, 2007; Caniglia, 2008), variabilidad genética, filogeografía, relaciones filogenéticas (Ruell & Crooks; 2007, Bozarth 2010.) e identificación de sexos (Kurose *et al*, 2005).

El estudio de las excretas o escatología es importante para obtener información relacionada con sus presas, como pequeños mamíferos que no se detectan en otros estudios (Wang, 2002). La escatología tiene una gran ventaja sobre las técnicas del examen del

contenido intestinal o de la observación directa de la alimentación, esta es, la relativa facilidad de obtener muestras a través de un proceso no invasivo (Andheria, *et al.* 2007). En los carnívoros, el alimento puede condicionar la organización social, el uso del hábitat y las tasas de reproducción (Wang, 2002,).

1.3 ADN mitocondrial y gen citocromo b

El estudio del ADN mitocondrial es importante por poseer una alta diversidad de genes, en donde las mutaciones se acumulan más rápido comparadas con las del núcleo. El mitocondrial es completamente de herencia materna y no se recombina, siendo una herramienta eficiente para relacionar un individuo con otro (Cann *et al* 1987), el ADN mitocondrial (ADNmt) es una molécula circular covalentemente cerrada, de tamaño pequeño (*ca.* 16-20 kilobases), conformada por 37 genes (13 ARN mensajeros, 2 ARN ribosomales y 22 ARN de transferencia); uno de los genes más importantes es el gen citocromo b, que sintetiza uno de los citocromos que participan en transporte de electrones para la respiración mitocondrial, este gen puede ser amplificado fácilmente mediante PCR y sus productos ser secuenciados. Funciona muy bien cuando se trata de muestras no invasivas (Frankham *et al.*, 2002), además de que es usado frecuentemente en estudios de sistemática de especies y divergencias taxonómicas (Farias, *et al* 2001).

1.4 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es un método rápido para clonar ADN que incrementa el potencial de la investigación de ADN recombinante y elimina la necesidad del uso de células huésped para clonarlo. La PCR copia secuencias específicas de ADN mediante una serie de reacciones *in vitro*, puede amplificar secuencias diana de ADN presentes en cantidades infinitesimales entre una población de otras moléculas de ADN. Uno de los prerequisites para la PCR es que se necesita de alguna información sobre la secuencia nucleotídica del ADN a clonar.

La información de la secuencia se utiliza para sintetizar dos cebadores oligonucleotídicos: uno para el extremo 5' y otro para el extremo 3' de la secuencia que se clonará. Se añaden los cebadores a una muestra de ADN cuyas moléculas se han separado en cadenas sencillas. Los cebadores se unen a los nucleótidos complementarios que flanquean la secuencia a clonar. Después de la hibridación se añade una ADN polimerasa

resistente al calor, y ésta sintetiza una segunda cadena de ADN. La repetición de estos pasos genera más copias de ADN.

En la práctica, la reacción de PCR implica tres pasos. En teoría, la cantidad de ADN amplificado que se produce sólo está limitado por el número de veces que se repiten estos pasos:

1. El ADN a clonar se *desnaturaliza* en cadenas sencillas. El ADN de doble cadena se desnaturaliza calentándolo a unos 90-95°C, lo que los disocia en cadenas sencillas (normalmente en unos 5 minutos).
2. Se disminuye la temperatura de la reacción hasta 50-70°C, denominada temperatura de *hibridación*, a la que los cebadores se unen al ADN de cadena sencilla. Los cebadores sirven de punto de iniciación para la síntesis de nuevas cadenas de ADN complementarios al ADN diana.
3. A la mezcla de reacción se le añade una ADN polimerasa resistente al calor (la polimerasa *Taq*). La síntesis de ADN se realiza a una temperatura de 70 a 75°C. La polimerasa *Taq* extiende los cebadores añadiendo nucleótidos en dirección 5'-3', haciendo una copia de doble cadena del ADN diana.

1.5 PCR- Polimorfismos en la Longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

Los PCR-RFLP son una técnica popular, simple, rápida y económica para análisis genéticos, (Lucentini *et al* 2006) se usa principalmente para identificar variaciones interespecíficas e intraespecíficas. Esta técnica aprovecha los diferentes tipos de variaciones genéticas a nivel de nucleótidos, denomina variaciones a pequeña escala, incluyen polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), polimorfismos de múltiples nucleótidos (MNPs), los cuales marcan múltiples variaciones de nucleótidos consecutivos, como los polimorfismos de doble nucleótido (DNPs) y de tres nucleótidos (TNPs), también son considerados los Microindels, los cuales son deleciones, duplicaciones y combinaciones, lo cual involucra la ganancia o pérdida de 1 a 50 nucleótidos. Estas variaciones genéticas a menudo se encuentran asociadas a un sitio de reconocimiento de algún tipo de enzima de restricción.

El primer paso en un análisis de PCR-RFLP es la amplificación de un fragmento de ADN que contenga la variación, posteriormente el fragmento amplificado se trata con una enzima de restricción apropiada, dado que la ausencia o presencia de la enzima de restricción dará como resultado sitios de reconocimiento y por ende la formación de

fragmentos de restricción de diferentes tamaños a lo largo de la cadena de ADN, estos fragmentos pueden ser visibles en un gel de agarosa simple.

1.6 Análisis de hábitos alimenticios

Algunos estudios sobre dieta de carnívoros como los felinos, indican que el tamaño corporal de la presa se relaciona positivamente con el tamaño corporal del depredador (Wang, 2002; Villa-Meza, 2002). El peso promedio del ocelote es de 10 kg y este varía entre los 8 y 18 kg, consumen presas pequeñas, siendo en su mayoría (90%) menores a un kilogramo; sin embargo, también consumen presas de talla mediana a grande, pero no más de 10 kg como los marsupiales y venados temazate; (Villa-Meza, 2002; Sunquist y Sunquist 2002; Moreno, 2006, Konecny *et al* 1989).

El jaguarundi se alimenta preferentemente de presas pequeñas (≤ 1 kg), principalmente mamíferos, aves y algunos artrópodos (Konecny *et al* 1989, Bianchi 2011, Tófoli, *et al.* 2009), mientras que sus principales presas son roedores arborícolas, pequeñas aves y en ocasiones marsupiales pequeños, (Konecny *et al* 1989 Oliveira, 1998 Bianchi 2011). Los canidos oportunistas como el coyote y la zorra gris tienen una dieta que puede variar de manera espacial y temporal, en función de la disponibilidad de alimento (Grajales-Tam, *et al* 2003), consumen conejos, ardillas y pequeños roedores, también pueden alimentarse de invertebrados, principalmente insectos y de plantas, principalmente de sus frutos (tunas y manzanas), de los cuales son dispersores en especial la zorra gris; sin embargo, se ha registrado el consumo oportunista carroñero de venados (Fritzell and Haroldson, 1982; Aguilar, 2011).

El pelo es un carácter distintivo de los mamíferos y no tiene homólogo estructural entre los demás vertebrados (Baca-Ibarra y Sánchez-Cordero, 2004). La identificación de las presas en las heces de carnívoros se hace utilizando el pelo, fragmentos de cráneo y dientes, información que se compara con material de referencia disponible en colecciones, (Cascelli, 2007). Cuando no se cuenta con material de referencia de las características de los mamíferos, el pelo de las presas es un elemento clave para llevar a cabo su identificación (Arita, H., 1985) microscópica, esto ha permitido identificar diversas especies a nivel mundial (Pech-Canche, *et al.* 2009).

Uno de los primeros estudios de identificación de presas fue el realizado por Arita en 1985 con la descripción de los pelos de guardia de los mamíferos del Valle de México. Posteriormente, en 1987, Arita y Aranda publicaron un manual de técnicas para estudiar y clasificar los pelos, el cual sirvió como base para elaborar guías y catálogos a nivel específico de mamíferos de algunos estados de la república mexicana como en Oaxaca (Baca y Sanchez-Cordero, 2004) y en Yucatan (Pech-Canche, *et al.* 2009).

2 ANTECEDENTES.

2.1 *Extracción de ADN e identificación de heces de carnívoros silvestres*

Las primeras extracciones de células provenientes de heces fueron realizadas por Albaugh *et al.*, en 1992 para estudiar marcadores celulares. Asimismo, Sidransky *et al.* (1992) para identificar los genes precursores de cáncer en humanos, llevaron a cabo por primera vez, la extracción de ADN de células provenientes de heces mediante lavados con detergentes (SDS) y fenol cloroformo.

El ADN contenido en las células epiteliales de las heces de diversas especies, en especial las de carnívoros, se ha extraído con soluciones salinas y jabonosas, precipitando el ADN con fenol cloroformo y alcoholes (Frantzen *et al* 1998; Piggott and Taylor 2003). Para ello se han utilizado diversos kits de extracción como el DNeasy Tissue Kits y el QIAamp ADN Stool Mini Kit ambos de la marca QIAGEN (Kurose *et al* 2005; Murakami T. 2001; Deagle *et al* 2005; Wasser *et al* 1997; Farrell, *et al* 2000; Haag *et al.* 2009; Mondol *et al* 2009; Bozarth, 2010) y algunos kits con modificaciones en las metodologías (Wasser *et al* 2004; Wehausen *et al* 2004). También se han usado kits para la extracción de ADN de plantas como el Nucleon phytopure kit (Davison *et al* 2002).

Los primeros estudios conducidos con el ADN de heces de oso pardo europeo (*Ursus arctos*) fueron los realizados por Hoss *et al* (1992). Ellos utilizaron oligonucleótidos para amplificar la región control del ADN mitocondrial para identificar las heces y evaluar la variación genética entre sus poblaciones. Posteriormente, Gerloff *et al.* (1995) realizaron un análisis del ADN de heces de bonobo (*Pan paniscus*) para identificar con microsatélites las diferencias entre poblaciones. Asimismo, Constable *et al*

(1995) amplificaron y secuenciaron una fracción de ADN nuclear del bonobo con oligonucleótidos diseñados para secuencias de humanos, ellos encontraron seis regiones polimórficas, distintas de la secuencia de humano. Paxinos *et al.* (1997) utilizaron por primera vez la técnica de PCR-RFLP para identificar 3 especies de canidos silvestres; para ello, usaron el ADN mitocondrial del gen citocromo b extraído de sus heces, usaron un oligonucleótido diseñado a partir de secuencias conocidas de este gen para tres especies de zorra y de coyote, el cual complementaron con un oligonucleótido para cánidos (Kocher *et al* 1989). Una vez obtenido el fragmento de 378 bp, utilizaron enzimas de restricción para cortar las secuencias y comparar patrones de bandeo para cada especie.

La técnica de PCR-RFLP se utilizó posteriormente para identificar la presencia y distribución de cuatro especies de felinos de Norte America, lince canadiense (*Lynx canadensis*), lince rojo o gato montés (*Lynx rufus*), puma (*Puma concolor*) y gato doméstico (*Felis catus*) (Mills et al., 2002). Para ello, extrajeron ADN del folículo piloso y muestras de tejido tomados de esas cuatro especies que se encontraban en cautiverio y así generar la prueba positiva. La extracción de ADN genómico se llevó a cabo con el Dneasy tissue kit de la marca Quiagen, y para amplificar la región control del ADN mitocondrial de las cuatro especies, utilizaron un oligonucleótido, de esta forma obtuvieron fragmentos de 700 bp aproximadamente, los cuales fueron cortados con tres enzimas de restricción *Hae* III, *Hpa* II y *Rsa*I. Se observó que *Hae* III cortó los productos de PCR de las cuatro especies de felinos, generando secuencias del mismo tamaño, a diferencia del lince canadiense que además produjo un fragmento de 113 bp, esto permitió diferenciar al lince canadiense de las otras especies.

En Paraguay, Zuercher *et al* (2003) desarrollaron tres oligonucleótidos específicos para cánidos y felinos. A partir de las secuencias completas del gen citocromo b de ADN mitocondrial, seleccionaron tres enzimas de restricción en canidos (*Bam*HI, *Dde*I y *Btg*I), para cortar los productos obtenidos por PCR de 338 bp y poder diferenciar cuatro posibles especies de canidos; para cinco especies de pequeños felinos usaron cuatro enzimas de restricción (*Cla*I, *Hpa*II, *Alu*I y *Mn*II) en cadenas de 341 bp obtenidas de productos de PCR; por ultimo para diferenciar grandes felinos usaron las enzimas de restricción(*Alu*I *Hph*I y *Rsa*I) en fragmentos de 276 bp; finalmente con la técnica de PCR-RFL lograron identificaron 36 heces de jaguar (*Phantera onca*), 26 de puma y 5 de jaguarundi, además

identificar 11 de ocelote 29 de oncilla (*Leopardus tigrinus*), 10 de tigrillo y 7 de gato de Geoffroy (*Leopardus geoffroyi*).

Esta técnica de PCR-RFLP también se ha utilizado para identificar heces de carnívoros grandes como el tigre siberiano (*Panthera tigris altaica*) y el leopardo del Amur (*Panthera pardus orientalis*), depredadores simpátricos en el este de Rusia. Nagata *et al.* (2005) utilizaron folículos de ejemplares de estas dos especies resguardados en el zoológico de Inokashira en Tokyo, Japon. También obtuvieron muestras sanguíneas de venado sika (*Cervus nippon*), gato doméstico (*Felis catus*), pelo de perro doméstico (*Canis familiaris*) y humano (*Homo sapiens*); el ADN de las muestras sanguíneas se extrajo usando un QIAamp mini kit de la marca QUIAGEN, el PCR se realizó con dos pares de oligonucleótidos y un par universal como control positivo del gen citocromo b de ADN mitocondrial. Los productos de PCR se secuenciaron para localizar los sitios de restricción e identificaron a la enzima *Hinf I* que cortaría la secuencia para generar fragmentos de restricción, posteriormente estos fragmentos fueron observados en geles de agarosa para identificar las especies, esta técnica fue realizada en 105 heces colectadas de las cuales solo se logró amplificar por PCR un total de 63 muestras, de las cuales 18 fueron de tigre y 45 de leopardo.

Específicamente en felinos, Cossios y Angers (2006) mediante la técnica de PCR-RFLP identificaron las heces de felinos de los Andes, como el gato andino (*Oreailurus jacobita*), gato de las pampas (*Lynchailurus colocolo*), gato de Geoffroy y otros carnívoros simpátricos como el zorro culpeo (*Pseudalopex culpaeus*), gato doméstico y perro doméstico. Para ello, usaron una porción de 263bp del gen mitocondrial 16S ADN ribosomal, amplificado mediante PCR con un oligonucleótido diseñado a partir de las secuencias completas de este mismo gen de cada especie. Los productos de PCR se dirigieron con siete enzimas de restricción (*DraI*, *HaeIII*, *NlaIII*, *NcoI*, *AseI*, *HpaII* y *MboI*) y distinguieron las especies mediante los patrones que generaban.

En mamíferos medianos, Lucentini *et al.* (2007) utilizaron la técnica de PCR-RFLP para diferenciar heces de tres especies de mustélidos (*Martes martes*, *M. Foina* y *Mustela putorius*) y de un canido (*Vulpes vulpes*), las cuales tienen un gran parecido morfológico. Para esto, realizaron la amplificación de un fragmento de 365 bp por el método de PCR con ayuda de un par de oligonucleótidos diseñados a partir de secuencias completas del

gen citocromo b de ADN mitocondrial reportado para estas especies. Una vez obtenidas las secuencias de los productos de PCR se usaron en el programa RestrictionMapper en donde se identificaron tres enzimas de restricción *HinfI*, *AluI* y *TagI*, con las cuales pudieron diferenciar patrones de restricción para cada especie. De un total de 50 heces, solo diferenciaron 29, 15 fueron de *Martes martes*, 9 de *M. Foina*, 2 de *Mustela putorius* y 3 de *Vulpes vulpes*.

Bidlack *et al.* (2007) desarrollaron un método para diferenciar heces de carnívoros mediante PCR-RFLP; usando una porción de 234 bp de ADN mitocondrial del gen Citocromo b, desarrollaron un oligonucleótido no específico a partir de las secuencias completas de este gen y lo usaron en conjunto con el oligonucleótido desarrollado por Paxinos *et al.* (1997). La secuencia obtenida con PCR se analizó con el programa NebCutter (v. 2.0, New England Biolabs) y determinaron el uso de tres enzimas de restricción (*HpaII*, *DdeI*, *HpyCH4V*), de esta forma identificaron perfectamente el ADN de coyote (*Canis latrans*), zorro rojo (*Vulpes vulpes*), zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), gato montés (*Lynx rufus*), puma (*Puma concolor*) mapache (*Procyon lotor*), y zorrillo (*Mephitis mephitis*).

Otros métodos utilizados para la identificación de heces, han sido a base de oligonucleótidos (**primer**) especie-específicos, los cuales solo generan productos de PCR de la especie a la cual están dirigidos (Kurose, *et al.* 2005, Shimatani, *et al.* 2008). A esta técnica se le conoce como Protocolo Rápido de Clasificación (Rapid Classificatory Protocol “RCP-PCR”) (Dalén *et al.* 2004) y ha sido usada para amplificar fragmentos del gen NDH5 de ADN mitocondrial (Roques *et al.* 2011), estos pueden ser especie-específicos, los cuales pueden dirigirse a un conjunto de especies (García. 2013). En México para identificar heces de jaguar y puma se utilizó la técnica de hibridación con fosforo radioactivo (P^{32}), con la cual, los fragmentos amplificados al observarse con rayos x en una membrana se observaron primero muestras positivas y después muestras problema por especie (Rueda *et al.* 2013).

2.2 Hábitos alimenticios de mesocarnívoros

En México, los estudios sobre hábitos alimenticios de mesocarnívoros neotropicales como el ocelote y jaguarundi son escasos e inexistentes para el tigrillo a diferencia de los

trabajos de dieta sobre el coyote y zorra gris que son numerosos. Villa-Meza *et al.* (2002) estudiaron los hábitos alimenticios del ocelote en la Reserva de la Biosfera de Chamela-Cuixmala, Jalisco. Para ello, utilizaron 51 excretas de ocelote identificadas por su forma, tamaño y las huellas asociadas, separaron, identificaron y analizaron los restos indigeribles aplicando a sus resultados un índice de diversidad (Shannon-Wiener). Cada excreta se consideró como un evento alimentario independiente. Los resultados de composición de dieta se reportaron como frecuencia de ocurrencia de las presas en la materia fecal y también calcularon la biomasa consumida con la ecuación de regresión $y=16.63+4.09x$ elaborada para el gato montés (*Lynx rufus*). Encontraron que los mamíferos (45%) son la principal fuente de alimento para los ocelotes, los reptiles (32%) y las aves (3%). La iguana *C. pectinata* fue la más importante y en ese orden *L. pictus* y subadultos de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). Guerrero *et al.* (2002) determinaron, a partir de 36 heces, la composición de la dieta del jaguarundi en la costa sur de Jalisco, México e identificaron que los mamíferos (43.4%) aportaron más a la dieta, después los vegetales (26.5%), insectos (17%) y aves (7.23%).

El coyote es el mesocarnívoro más estudiado, especialmente en el norte y centro de México; en cuanto a su dieta, los mamíferos constituyen la mayor parte (70-80%), principalmente las liebres y conejos (35-40%), así como roedores (25-35%), artrópodos (18%) y frutos (15 %) (Delibes *et al* 1986, Hernandez *et al* 2002, Cruz *et al* 2010; Martinez-Vazquez *et al* 2010). Sin embargo, las aves en la isla San Luis Gonzaga en Baja California fue el grupo más consumido (49%), luego los peces (22%), plantas (15%) y los mamíferos solo aportaron el 3.5% en su dieta (Alvarez-Castañeda and González-Quintero 2005), con esto se demuestra que el coyote es una especie oportunista y que consume presas de acuerdo con su disponibilidad. Asimismo, en el desierto del Vizcaíno Grajales-Tam *et al* (2003) describieron a los artrópodos, como los más frecuentes en las heces, y a los mamíferos, particularmente a los lagomorfos, como las especies que más biomasa aportaron a la dieta; sin embargo, Guerrero *et al* (2002) describieron que en la costa de Jalisco, los frutos fueron mayormente consumidos (36.8%), luego los mamíferos (33.8%), las aves (12.5%) e insectos (11.4%).

La zorra gris, en Jalisco, prefirió a los artrópodos (74%), vegetales (53%) y con menor frecuencia a los vertebrados (50.8%) (Graf, 1988). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la Reserva de la Biosfera, Sierra de Manantlan (Esparza; 1991) y

Guerrero *et al.*, (2002) analizaron 78 heces para determinar su dieta encontrando una frecuencia de ocurrencia del 38.2% para vegetales, 27% de insectos y 25% de mamíferos (Aguilar 2011; Villalobos 2011).

Otros trabajos relacionados a los hábitos alimenticios de mesocarnívoros simpátricos son el de Konecny *et al.*, (1989) en Belice quienes describieron la dieta de tres especies, utilizando 46, 27 y 49 heces de jaguarundi, tigrillo y ocelote, respectivamente. La dieta del jaguarundi se constituyó principalmente de artrópodos (71.4%), mamíferos (47.7%) y aves pequeñas (21.4%) expresando los resultados como frecuencia de ocurrencia, recolectaron un total de 49 excretas de ocelote, donde los mamíferos constituyeron el 98% de la ingesta, para el jaguarundi recolectaron 46 heces, presentando una frecuencia mayor para artrópodos (71.4%), seguido de mamíferos (47.7%) y aves pequeñas (21.4%); otra especie evaluada fue el tigrillo del cual recolectaron 27 heces y describen a los mamíferos pequeños como el grupo más importante consumido por esta especie (96.2%), seguido de los artrópodos (33.3%) y aves pequeñas (29.2%), así como algunos frutos (14.4%).

La dieta del jaguarundi (51 heces) y ocelote (21 heces) en el sur de Brasil Silva-Pereira *et al.* (2010) determinaron que se compuso de principalmente de roedores con 77.6% y 92.4% para el jaguarundi y ocelote, respectivamente. Asimismo, Wang Ellen (2002) en el sureste de Brasil, analizó 17 heces de ocelote, 20 de tigrillo y 3 de jaguarundi, determinó que ambos tienen una preferencia por roedores menores a 1kg de peso. En la dieta del ocelote los roedores representaron el 67%, aves 20% y serpientes el 13%, el tigrillo presentó una preferencia del 76 % de mamíferos, 17% aves y 7 % de reptiles. Dentro de la Reserva Natural Vale do Rio Doce el tigrillo consume principalmente mamíferos (60%), aves (29%) y reptiles (10%), mientras que el jaguarundi pequeños mamíferos (42%), aves (41%) y reptiles (17%) (Bianchi *et al.*, 2011). Abreu *et al.* (2007) realizó un estudio sobre la dieta del ocelote, hacia el sureste de Brasil. Recolectaron un total de 42 muestras y encontraron un porcentaje de ocurrencia del 78% de mamíferos, seguido de un 16% de aves. Pereira (2010) en una región fragmentada de la amazonia brasileña describió un porcentaje de ocurrencia en la dieta del ocelote para invertebrados del 54%, mamíferos del 20 %, semillas del 16%, reptiles del 4.76% y peces 2%, para el jaguarundi describe una frecuencia de ocurrencia del 100% de mamíferos y del 33.3% de artrópodos. Tófoli *et al.* (2009) describió la dieta del jaguarundi en el sureste de Brasil,

donde los mamíferos pequeños fueron los más frecuentes (42.5%), seguidos por las aves (21%), reptiles (14%) y mamíferos medianos (3%).

En Perú, Emmons (1988) analizó 177 excretas de ocelote y determinó que su dieta se conformó de mamíferos pequeños (66%), aves (11%), reptiles (12%) y peces (2%). También explicó que el tipo de presa en la dieta es un indicador de la actividad (diurna o nocturna) del ocelote, ya que el 91% de los mamíferos en su dieta son activos durante la noche y solo el 9% durante el día.

Farrell *et al.* (2000) describieron que pequeños depredadores en Venezuela, consumieron presas pequeñas de mamíferos (26%), mamíferos medianos (22%), aves (7%), reptiles (43) e insectos (2%) en el caso del ocelote y la zorra gris consumió pequeños mamíferos (34%), aves (23%), peces (31%) e insectos (12). En Colombia dentro de la reserva Río Blanco, municipio de Manizales, departamento de Caldas fue descrita la dieta del ocelote, la cual se constituyó por mamíferos pequeños (52%), por mamíferos mayores a 400g (38%) y por aves (10%) (Sánchez *et al.*, 2008).

Neale and Sacks (2001) describieron los hábitos alimenticios del coyote y la zorra gris en California USA, y concluyeron que la alimentación en ambos canidos es completamente omnívora, incluyendo frutos especialmente en la de la zorra gris y que existe un gran solapamiento en sus dietas. Otro estudio sobre la dieta de estas especies en California, USA, describió que para ambas especies existe un cambio estacional en la dieta de acuerdo a la disponibilidad de recursos, donde el consumo de frutos es de 59 y 41 % para zorra y coyote respectivamente, y el consumo de roedores del 18 y 16% en el verano-otoño, cambiando por completo en el invierno donde su consumo de roedores es de 44 y 36% y frutos del 14 y 8 % (Fedriani *et al.*, 2000), en Tallahala Wildlife Management Area Mississippi en Bienville National Forest Chamberlain and Leopold (1999) analizaron un total de 592 heces de coyote entre 1991 y 1997, , donde su dieta vario en cada proporción cada año, la presa más frecuente fueron conejos variando desde un 20% hasta un 50%, seguido de venado cola blanca el cual se encontró desde un 20% hasta un 40% dependiendo el año y frutos variando desde un 10 hasta un 50% en la dieta.

3 OBJETIVOS.

3.1 *Objetivos generales.*

Diferenciar mediante PCR-RFLP las heces de diferentes especies de mesocarnívoros y determinar sus hábitos alimenticios en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

3.2 *Objetivos particulares*

1. Identificar las especies de las dietas de mesocarnívoros en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.
2. Determinar la frecuencia y porcentaje de ocurrencia de presas y biomasa consumida por mesocarnívoros en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.
3. Determinar el traslape de dietas de mesocarnívoros en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

4 ÁREA DE ESTUDIO.

El presente estudio se desarrolló durante febrero-mayo 2011, noviembre 2011 y febrero 2012 en la Reserva de la Biosfera "Sierra del Abra Tanchipa", San Luis Potosí, México (RBSAT). La RBSAT es un Área Natural Protegida de competencia federal ubicada en la Huasteca Potosina, específicamente, en los municipios de Ciudad Valles y Tamuín. Tiene una extensión de 21,464 has, una zona núcleo de 16,758 has y se localiza en las coordenadas: 22° 24'-22° 03 N, 90° 59'-98° 53' W (Figura 1). Los tipos de vegetación en la RBSAT son, Selva baja caducifolia (Bosque Tropical Caducifolio) con una superficie de 19,105.66 has que representa el 89% de la superficie del área protegida, Selva Mediana Subcaducifolia; con un área de 1,659.28 ha, que representan el 7.73 % de la superficie total del área natural protegida, Selva baja Subperenifolia (Bosque espinoso), Encinar Tropical, Palmar, y pastizal lo cual genera una alta diversidad de especies de flora y fauna silvestre endémicas. Esta diversidad se debe a que la RBSAT se ubica en la zona de transición de las regiones biogeográficas Neártica y Neotropical (Ibarra y Galindo, 2010, Mballa, *et al.* 2011). Existen áreas dentro de la reserva en donde la selva baja caducifolia y la selva mediana subcaducifolia han sufrido perturbaciones por factores antropogénicos y siguen el proceso sucesional caracterizado por la presencia de especies como aquiuche o guazima

(*Guazuma ulmifolia*), huizache (*Acacia farnesiana*), carnizuelo (*Acacia cornigera*) y palma (*Sabal mexicana*).

La RBSAT está considerada por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad como Región Terrestre Prioritaria 096, Sierra del Abra Tanchipa Región Hidrológica Prioritaria 72 Río Tamesí y 75 Confluencia de las Huastecas, siendo también un Área de Importancia para la Conservación de las Aves (AICA C-54) debido a los tipos de bosques con los que cuenta y a la presencia de la guacamaya verde (*Ara militaris*), loro tamaulipeco (*Amazona viridigenalis*), palmilla camedora (*Chamedora radicalis*), jaguar (*Pantera onca*), tigrillo (*Leopardus wiedii*) y ocelote (*Leopardus pardalis*), especies catalogadas por la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 en peligro de extinción.

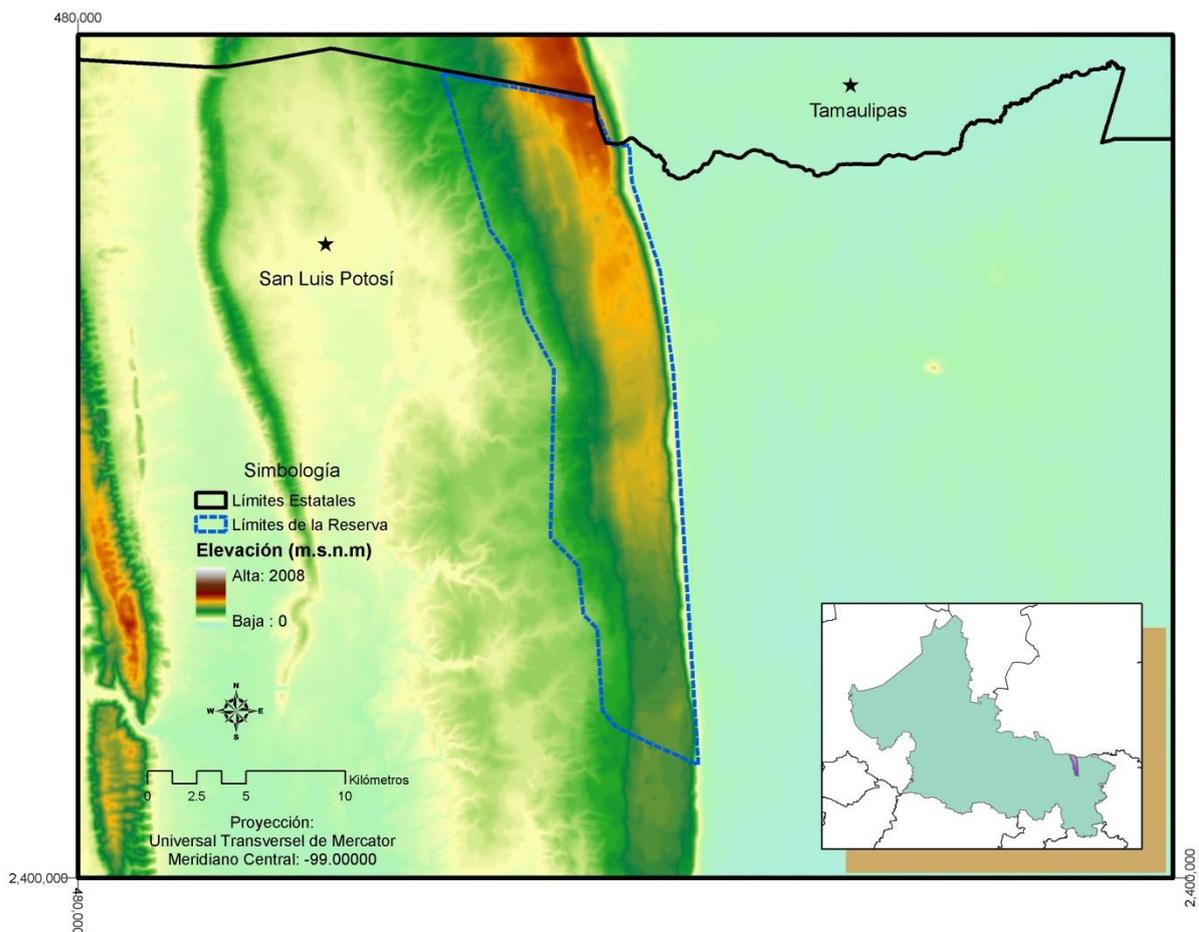


Figura 1. Polígono de la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México

El uso de la vida silvestre en la RBSAT se basa en la cacería furtiva de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), armadillo (*Dasypus novemcinctus mexicanus*),

chachalacas (*Ortalis vetula*), codornices (*Callipepla squamata*, *Colinus virginianus*, *Cyrtonix montezumae*, *Dactylortyx thoracicus*), conejo (*Sylvilagus floridanus connectens*), paloma de alas blancas (*Zenaida asiatica*), huilota (*Zenaida macroura*), y paloma morada (*Patagonaes flavirostris*), principalmente. De igual manera son utilizados algunos reptiles como iguana (*Ctenosaura acanthura* y *Ctenosaura similis*) y víbora de cascabel (*Crotalus durissus*), así como tlacuaches (*Didelphis marsupialis* y *Philander opossum*) y zorrillos (*Conepatus leuconotus*, *Mephitis macroura* y *Spilogale putorius leucoparia*), con fines alimenticios y medicinales.

La RBSAT presenta distintos grados de perturbación, especialmente en el centro y sur y las áreas más conservadas son las partes altas de la sección norte, donde se distribuye la selva mediana subperennifolia y parte de la selva baja caducifolia. La RBSAT está integrada por terrenos federales, ejidales y de propiedad privada (Diario Oficial de la Federación, 1994).

5 LITERATURA CITADA

- Abreu Kaue C., Moro-Rios Rodrigo F., Silva-Pereira José E., Miranda Joao M.D., Jablonski Estefano F. and Passos Fernando C. 2007 Feeding habits of ocelot (*Leopardus pardalis*) in Southern Brazil. Mammalian Biology Short communication.
- Aguilar S.M, 2011. Dieta de la zorra gris: ¿Es legítimo dispersor de las semillas que consume en sierra de Quila Jalisco? Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara pp 55.
- Albaugh, G.P, Iyengar V., Lohani A., Malayeri M., Bala S. and Nair P. P. 1992. Isolation of exfoliated colonic epithelial cell, a novel, non-invasive approach to the study of cellular markerd. International Journal of Cancer 52: 347-350.
- Aliaga-Rossel Enzo, Moreno Ricardo S., Kays Roland W. and Giacalone Jacalyn. 2006 Ocelot (*Leopardus pardalis*) Predation on Agouti (*Dasyprocta punctata*) Biotrópica 38(5): 691-694.

- Álvarez-Castañeda S.T. and González Quintero P. 2005. Winter-spring food habits of an island population of Coyote *Canis Latrans* in Baja California, México. *Journal of Arid Environments* 60: 397-404.
- Andheria, A.P., Karanth, K.U., Kumar, N.S. 2007 Diet and prey profiles of three sympatric large carnivores in Bandipur Tiger Reserve, India. *Journal of zoology*. Vol 273, issue 2, pp. 169-175.
- Aranda Sanchez J.Marcelo., 2012. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).32 pp.
- Arita, H. 1985. Identificación de los pelos de guardia dorsales de los mamíferos silvestres del valle de México. Tesis, Facultad de Ciencias, México, D. F. UNAM 128 pp.
- Baca Ibarra I.I. y Sánchez-Cordero Víctor, 2004. Catálogo de pelos de guardia dorsal en mamíferos del estado de Oaxaca, México. *Anales del instituto de biología. Serie Zoología*, julio-diciembre, año/vol.75, número 001, Universidad Nacional Autónoma de México. México, pp. 383-437.
- Bekoff Marc, 1977, *Canis Latrans*, *Mammalian Species*. 79: 1-9.
- Bellemain E.; Swenson J. E.; Tallmon D.; Brunberg S.; and Taberlet P. 2005. Estimating Population Size of Elusive Animals with ADN from Hunter-Collected Feces: Four Methods for Brown Bears. *Conservation Biology*, 19:1 pp. 150-161.
- Bianchi R de C., Rosa A. F., Gatti A. & Mendes S L., 2011; Diet of margay, *Leopardus wiedii* , and jaguarondi, *Puma yagouaroundi*, (Carnivora: felidae) in Atlantic Rainforest, Brazil *Zoologia* 28(1) 127-132.
- Bidlack AL, Reed SE, Palsbøll PJ, Getz WM: Characterization of a western North American carnivore community using PCR-RFLP of cytochrome b obtained from fecal samples. *Conserv Genet* 2007, 8:1511-1513.
- Bozarth C. A. 2010. Phylogeography and non-invasive molecular monitoring of coyote (*Canis latrans*) and gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*) in northern Virginia and the eastern United States. Tesis. *George Mason University Fairfax, VA*.72pp

- Caniglia G. 2008. Non-invasive genetics and wolf (*Canis lupus*) population size estimation in the Northern Italian Apennines. Università di Bologna, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica Tesis de Doctorado. pp 84
- Cann L. R., Stoneking M. and Wilson 1986. Mitochondrial ADN and human evolution. *Nature* Vol 325: 1
- Caselli de A. F. C. and Murray Dennis Lewis. 2007. Spatial organization and food habits of jaguars (*Panthera onca*) in a floodplain forest. *Biological conservation*. 137, pp.
- Ceballos, G. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Fondo de cultura económica, México. 986 pp.
- Chamberlain J. M. and Leopold D. B. 1999. Dietary patterns of Sympatric Bobcats and Coyotes in Central Mississippi. Proc. Annu. Conf. Southeast. Assoc. Fish and Wildl. Agencies 53: 204-219
- Constable JJ, Packer C., Collins D. A., Pusey A. E. 1995. Nuclear ADN from primate dung. *Nature*, 373, 393.
- Cossíos D, Angers B: Identification of Andean felid species using PCR-RFLP. *Mastozool Neotrop* 2006, 13:239-244.
- Cove M V, Pardo L E, Spínola R M, Jackson V L & Sáenz J C. 2012. Coyote *Canis latrans* (carnivora:canidae) range extension in northeastern Costa Rica: possible explanation and consequences. *Revista latinoamericana de conservación*. ISSN 2027-3851
- Cruz E. A., González Pérez G. E., y Santos-Moreno A. 2010 Dieta del coyote (*Canis latrans*) en Ixtepeji, Sierra Madre de Oaxaca, México. *Naturaleza y desarrollo*. 8 (1) pp 31-42.
- Curteanu M. M. 2007. Feasibility of faecal ADN Genotyping as a Noninvasive Population Survey Technique for the Canadian Swift Fox (*Vulpes velox*). University of Manitoba. Tesis of Master; pp 125.

- Dalén L., Gotherstrom A. and Angerbjorn A. 2004. Identifying species from pieces of faeces. *Conservation genetics* 5: 109-111.
- Davison A., Birks J D., Brookes R.C., Braithwaite T. C. and Messenger J. E.,2002. On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal Zoological London*: 257. 141-143.
- Deagle B. E., Tollit D. J., Jarman S. N., Hindell M. A., Trites A. W. and Gales N. J. 2005. Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey ADN in scats from captive Steller sea lion. *Molecular Ecology* 14: 1831-1842
- Delibes Miguel, Calzada Javier, Chávez Cuauhtémoc, Revilla Eloy, Ribeiro Beatriz A., Prado Denise, Keller Claudia, Palomares Francisco. 2010. Unusual observation of an ocelot (*Leopardus pardalis*) eating an adult Linnaeus's two-toed sloth (*Choloepus didactylus*). *Mammalian Biology, Short Communication*.
- Delibes Miguel, Hernandez Lucina y Hiraldo Fernando. 1986. Datos preliminares sobre la ecología del coyote y el gato montés en el sur del desierto de Chihuahua, México. *Historia Natural*, 6 (9)
- Emmons, L.H. 1988. A field study of ocelots (*Felis pardalis*) in Peru. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, vol. 43.pp 138-139.
- Esparza, G. A. 1991. Variación estacional en la dieta de mamíferos carnívoros en la Estación Científica las Joyas. Tesis. Universidad de Guadalajara.
- Farias I. P., Ortí G., Sampaio I., Schneider H., Meyer A., 2001. The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationship Among Cichlid Fishes. *Journal of Molecular Evolution*. 53: 89-103
- Farrell Laura E., Roman Joseph and Sunquist Melvin E. 2000 Dietary separation of sympatric carnivores identified by molecular analysis of scats *Molecular Ecology* 9, 1583–1590
- Fedriani M. J., Fuller K. T., Sauvajot M.R. and York C E. 2000. Competition and intraguild predation among three sympatric carnivores. *Oecologia* 125: 258-270.

- Frankham R., Ballou J. D., Briscoe D. A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. Pp 607.
- Frantzen M. A., Silk J. B., Ferguson J. W., Wayne R. K. and Kohn M. H. 1998. Empirical evaluation of preservation methods for faecal ADN. *Molecular Ecology* 7, 1423-1428.
- Fritzell E. K. and Haroldson K. J., 1982 *Urocyon cinereoargenteus*, *Mammalian Species*. 189, 1-8
- Garcia Alaniz, Nashieli. 2010. Field and genetics methodologies for the study of felids in the Selva la Candona, Chiapas, Mexico: A Noninvasive Approach. ProQuest Dissertations & Theses: The sciences and Engineering Collection.
- Gerloff U., Schlotterer C., Rassmann K., Rambold I., Hohmann G., Fruth B. and Tautz D. 1995. Amplification of hypervariable simple sequence repeats (microsatellites) from excremental ADN of wild living bonobos (*Pan paniscus*). *Molecular ecology*. 4, 515-518.
- Graf, S. H. 1988. Fauna Silvestre en el bosque la Primavera; Hábitos alimentarios del coyote (*Canis latrans*) y Zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*). Tesis, Universidad de Guadalajara. pp 48.
- Grajales-Tam K M, Rodríguez Estrella R. y Cancino H J. 2003. Dieta estacional del coyote *Canis latrans* durante el periodo 1996-1997 en el desierto de Vizcaíno Baja California Sur, México. *Acta Zoologica Mexicana*. 89: 17-28
- Guerrero S., Badii M. H., Zalapa S. S. y Flores A E. 2002. Dieta y nicho de alimentación del coyote, zorra gris, mapache y jaguarundi en un bosque tropical caducifolio de la costa sur del estado de Jalisco, México. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie), 086. pp 119-137
- Haag T., Santos A. S., De Angelo C., Srbek-Araujo A. C., Sana D. A., Morato R G., Salzano F.M. and Eizirik E. 2009. Development and testing of an optimized method for ADN-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) faecal samples for use in ecological and genetic studies. *Genetic* 136: 505-512.

- Haines A. M., Tewes M. E., Laack L. L., Horne J. S. and Young J. S. 2006. A habitat-based population viability analysis for ocelots (*Leopardus pardalis*) in the United States. *Biological Conservation*. 132: 424-436
- Hernández, L., R. Parmenter, J. W. Dewitt, D. C. Lingham & J. W. Laudré. 2002. Coyote diets in the Chihuahua Desert, more evidence for optimal foraging. *Journal of Arid Environments* 51, 613-624.
- Hoss M., Kohn M., Pobo S., Knauer F., Schroder W. 1992. Excrement analysis by PCR. *Nature*, 359, 199.
- Kocher T. D., Thomas W. K., Meyer A., Edwards S. V., Paabo S., Villablanca F. X. and Wilson A. C. 1989. Dynamics of Mitochondrial ADN evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol 86 pp. 6196-6200.
- Ibarra Z. E. Galindo M. G. 2010. Diagnostico espacio temporal de la dinámica del uso de suelo en la Reserva de la Biosfera Sierra Abra Tanchipa, Huasteca Potosí. Coordinación para la innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología Universidad Autónoma de San Luis Potosí. pp. 9
- Konecny Michael J. 1989. Movement Patterns and Food Habits of Four Sympatric Carnivore Species in Belize, Central America. *Advances in Neotropical Mammalogy*, 243-264.
- Kurose N., Masuda R., and Tatara M. 2005. Fecal ADN Analysis for identifying Species and Sex of Sympatric Carnivores: A Noninvasive Method for Conservation on the Tsushima Islands, Japan. *Journal of heredity*: 96 (6) 668-697
- Lucentini L., Francesca V., Palomba A., Panara F. and Ragni B. 2006. Technical note A PCR-RFLP method on faecal samples to distinguish *Martes martes*, *Martes foina*, *Mustela putorius* and *Vulpes vulpes*. *Conservation Genetics*. 8: 757-759.
- Martínez-Vázquez, J., R. M. González-Monroy & D. Díaz-Díaz. 2010. Hábitos alimentarios del coyote en el parque nacional Pico de Orizaba. *Therya* 1, 145-154.

- Mballa L.V., C. Carranza Alvarez. y J. J.Maldonado-Miranda. 2011. “Perspectivas de planificación para la conservación del área Sierra del Abra Tanchipa”, Ide@s CONCYTEG, 6 (78), pp. 1440-1445.
- Mondol S., Karanth K. U., Kumar N. S., Gopalawamy A. M., Andheria A and Ramakrishnan U. 2009. Evaluation of non-invasive genetic sampling methods for estimating tiger population size. *Biological Conservation* 142: 2350- 2360
- Mills L.S., Pilgrim K.L., Schwartz M.K., and McKelvey K. 2000. Technical note: Identifying lynx and other North American felids based on mtADN analysis. *Conservation Genetics* 1: 285-288.
- Moreno, R.S., Kays, R.W. and Samudio, R. 2006 Competitive release in diets of ocelot (*Leopardus pardalis*) and puma (*Puma concolor*) after jaguar (*Panthera onca*) decline. *Journal of Mammalogy*. 87(4):808-816
- Murakami Takahiro. 2001. Species Identification of Mustelids by Comparing Partial Sequences on Mitochondrial ADN from Fecal Samples. *J. Vet. Med Sci*: 64(4): 321-323, 2002
- Nagata J., Aramilev V. V., Belozor A., Sugimoto T. and McCullough D.R. 2005. Fecal genetic analysis using PCR-RFLP of cytochrome b to identify sympatric carnivores, the tiger *Panthera tigris* and leopard *Panthera pardus*, in far eastern Russia. *Conservation Genetics*. 6: 863-865.
- Naidu A., Fitak R. R., Munguia-Vega A. and Culver M. 2012. Novel primers for complete mitochondrial cytochrome b gene sequencing in mammals. *Molecular Ecology Resources*. 12, 191-196.
- Neale J C. and Sacks B. N. 2001. Food habits and space use of gray foxes in relation to sympatric coyotes and bobcats, *Can. J. Zool*. 79: 1794-1800
- NOM-059-SEMARNAT-2010.
- Oliveira T. G. de, 1998 *Leopardus wiedii*. *Mammalian Species* 579: 1-6.
- Oliveira T. G. de, 1998 *Hepailurus yagouaroundi*. *Mammalian Species* 578: 1-6.

- Paxinos E., McIntosh C., Ralls K., and Fleischer R. 1997. A noninvasive method for distinguishing among canid species: amplification and enzyme restriction of ADN from dung. *Molecular Ecology*, 6, pp. 483-486
- Pech-Canché Juan M., Sosa-Escalante Javier Enrique y Koyoc Cruz Manuel Eduardo. 2009. Guía para la Identificación de Pelos de Guardia de Mamíferos no Voladores del Estado de Yucatán, México. Departamento de Zoología, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán, México. pp 32
- Pereira T. F. 2010. Análise Comparativa de Nichos Tóxicos de Carnívoros (MAMMALIA, CARNÍVORA) da Região de Alta Floresta, Estado do Mato Grosso, Brasil, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp. 74
- Piggott M. P. and Taylor A. 2003. Extensive evaluation of faecal preservation and ADN extraction methods in Australian native and introduced species. *Australian Journal of Zoology*. 51, pp. 341-355
- Reed, J. Z., D.J. Tollitt; P.M. Thompson; W. Amos. 1997. Molecular scatology: the use of molecular genetic analysis to assign species, sex and individual identity to seal faeces. *Molecular Ecology*. 6: 225-234
- Roemer Gary W., Gompper Matthew E. and Valkenburgh Blaire Van, 2009, The Ecological Role of the Mammalian Mesocarnivore, *BioScience* 59: 165-173.
- Roques S., Adrados B., Chavez C., Magnusson W. E., Palomares F. and Godoy J.A. 2011. Identification of Neotropical felid faeces using RCP-PCR. *Molecular Ecology* 11, 171-175.
- Ruell E. W. and Crooks K. R. 2007 Evaluation of Noninvasive Genetic Sampling Methods for Felid and Canid Populations. *Journal of Wildlife Management* 71 (5): 1690-1694.
- Rzedowski, J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp.
- Sánchez-González, L.A. y García-Trejo, E.a. 2010. San Luis Potosí. En Ortiz-Pulido, R., Navarro-Sigüenza, A., Gómez de Silva, H. y Peterson, A.T. (Eds), Avifaunas

Estatales de México. CIPAMEX. Pachuca, Hidalgo, México. Pp. 199-242 ISSN: 1870-7777.

- Sánchez F., Gómez Valencia B., Álvarez S. J. y Gomez-Laverde M., 2008. Primeros datos sobre los hábitos alimentarios del tigrillo, *Leopardus pardalis*, en un bosque andino de Colombia. *Revista U.D.C.A. Actualidad y Divulgación Científica* 11 (2): 101-107
- Shimatani Y., Takeshita T., Tatsuzawa S., Ikeda T., and Masuda R. 2008. Genetic identification of Mammalian Carnivore Species in the Kushiro Wetland, Eastern Hokkaido, Japan, By Analysis of Fecal ADN. *Zoological science* 25: 714-720.
- Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR., Kinzler K. W, Levin B., Frost and Vogelstein B. 1992. Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors. *Science*, 256, 102-105.
- Silva-Pereira José E., Moro-Rios Rodrigo F., Bilski Diego R., Passos Fernando C. 2010. Diets of three sympatric Neotropical small cats: Food niche overlap and interspecies differences in prey consumption Mammalian Biology Original Investigation. 40- 400
- Sunquist M. and Sunquist F. 2002. Wild Cats of the World. University of Chicago Press. 452 pp.
- Tófoli C. F., Rohe F. and Setz E.Z.F. 2009. Jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) (Geoffroy, 1803) (Carnivora, Felidae) food habits in a mosaic of Atlantic Rainforest and eucalypt plantations of southeastern Brazil. *Braz. J. Biol.*, 69 (3): 871-877.
- Villalobos Escalante A. 2011. Dieta de la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y su aporte a la dispersión de semillas en el jardín botánico de la universidad del mar Puerto Escondido, Oaxaca. Tesis Universidad del Mar. 58pp.
- Villa Meza A de., Martinez Meyer Enrique, López González Carlos A. 2002 Ocelot (*Leopardus Pardalis*) Food Habits in a Tropical Deciduous Forest of Jalisco, Mexico. *American Midland Naturalist*, Vol. 148, No. 1. pp. 146-154.
- Wang Ellen. 2002. Diets of Ocelots (*Leopardus pardalis*), Margays (*L. wiedii*), and Oncillas (*L. tigrinus*) in the Atlantic Rainforest in Southeast Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*. Vol. 37, No. 3, pp. 207-212.

- Wilson, D.E. 2009. Class Mammalian. In: Handbook of the mammals of the world.
- Wehausen J. D., Ramey R. R., and Epps C. W. 2004 Experiments in ADN Extraction and PCR Amplification from Bighorn Sheep Feces: the Importance of ADN Extraction Method. *Journal of heredity*. 95(6): 503-509
- Wasser S. K., Houston C. S. Koehler G. M., Cadd G. G. and Fain S.R. 1997. Techniques for application of faecal ADN methods to field studies of Ursids. *Molecular Ecology*. 6, 1091-1097.
- Zuercher G. L., Gipson P.S., and Stewart G. C. 2003. Identification of Carnivore Feces by Local Peoples and Molecular Analyses. *Wildlife Society Bulletin*. Vol. 31, No. 4, pp. 961-970

6 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HECES DE MESOCARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.

6.1 RESUMEN

Identificar las heces de especies de carnívoros simpátricos no es una tarea sencilla, especialmente las de aquellos que tienen la misma talla corporal. Principal desventaja para estudiar su distribución, demografía y análisis de hábitos alimentarios. El objetivo del presente estudio fue identificar heces de mesocarnívoros utilizando técnicas moleculares. Para ello, durante febrero-mayo 2011, noviembre 2011 y febrero 2012 en la Reserva de la Biosfera “Sierra de Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México se recolectaron 165 heces sobre caminos y una letrina. El ADN fue extraído y una sección del gen citocromo b de ADN mitocondrial fue amplificada con dos pares de “primers”, uno específico para cinco especies de felinos neotropicales, y otro no específico con el cual se pudieron identificar los canidos; como muestras control se extrajo y se amplificó el ADN obtenido de folículos de ocelote (*Leopardus pardalis*), gato montés (*Lynx rufus*), jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), tigrillo (*Leopardus wiedii*) y zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) en cautiverio; especies domesticas como perro (*Canis familiaris*) y gato (*Felis catus*), así como una muestra de tejido de puma (*Puma concolor*). Los productos de PCR de las muestras control se secuenciaron para identificar las enzimas de restricción *HpaII*, *MluC I*, *Hae II* y *Mbo I* que se usaron en la técnica de PCR-RFLP, generando fragmentos de restricción en las secuencias, observados como patrones de bandeo para cada especie en geles de agarosa al 2%. Se identificaron 108 muestras, 82 de *Leopardus pardalis*, 11 de *Urocyon cinereoargenteus*, 6 de *Puma concolor*, 6 de *Puma yagouaroundi* y 3 de *Leopardus wiedii*.

6.2 INTRODUCCIÓN

Los depredadores son animales altamente especializados para capturar a sus presas, los mamíferos del Orden Carnívora se caracterizan por poseer una dentadura capaz de cortar y triturar, ya que poseen unos molares filosos y caninos muy desarrollados. (Ceballos 2005). Este orden está constituido por 245 especies terrestres recientes, agrupadas en 107 géneros y 13 familias (Wilson, 2009).siendo la familia Felidae la más altamente especializada morfológicamente (Aliaga-Rossel *et al* 2006). Además las especies pertenecientes a este orden desempeñan un papel ecológico importante ya que influyen en la abundancia de las poblaciones de las especies presa y en la dinámica de la comunidad vegetal y, por consiguiente, la diversidad de plantas de cualquier ecosistema (Wang Ellen, 2002; Sánchez *et al.*, 2010).

Los carnívoros medianos (<20 kg) denominados “mesocarnívoros” son mucho más numerosos que los grandes carnívoros, tanto en riqueza y abundancia de especies como en su comportamiento y ecología, dado su pequeño tamaño y su capacidad de prosperar en hábitat diversos; sin embargo, se asume que estas especies tiene un menor impacto a nivel

ecológico y por consiguiente han recibido poca atención (Emmons, L.H. 1988; Roemer *et al*, 2009).

Dentro de los mesocarnívoros destaca el ocelote, *Leopardus pardalis* (Linné, 1758), el tigrillo, *Leopardus wiedii* (Schinz, 1821) y el jaguarundi, *Puma yagouaroundi* (É. Geoffroy Saint-Hilare, 1803), que son felinos medianos con distribución neotropical, pueden ser encontrados en una gran variedad de hábitats (Bianchi,*et al*. 2011). Asimismo, los canidos de amplia distribución en el continente americano, como el coyote, *Canis latrans* (Say, 1823) y la zorra gris, *Urocyon cinereoargenteus* (Schreber, 1775), son consideradas especies simpátricas que comparten diferentes hábitats generando confusiones al momento de identificar morfológicamente sus heces (Zuercher *et al*, 2003) y por consiguiente, pueden compartir ciertas preferencias hacia especies presa y cuyas distribuciones históricas abarcan para el ocelote desde el este y centro de Texas, oeste de Louisiana, sur de Arkansas y Arizona en los Estados Unidos hasta Paraguay y el norte de Argentina (Villa-Meza *et al*, 2002, Haines A. *et al*. 2006). Al ocelote se le encuentra en una gran variedad de hábitats desde los bosques tropicales húmedos hasta en zonas áridas y matorral (Delibes, *et al* 2010).

En México el ocelote se encuentra a lo largo de las costas del golfo y del pacífico y en toda la península de Yucatán. (De Villa, 1998; Ceballos , 2005), el tigrillo se distribuye desde el sur de Texas en Estados Unidos, Tamaulipas y Sinaloa, por todas las costas del gofo y del pacifico hasta el norte de Uruguay y Argentina y puede estar fuertemente asociado con hábitat de bosques (Oliveira, 1998; Bianchi *et al*, 2011), la distribución del jaguarundi comprende desde el sur de Texas, en Estados Unidos, en México se distribuye en las costas del golfo y pacífico hasta Perú, el sur de Brasil y Paraguay, hasta Buenos Aires y Rio Negro en Argentina (Oliveira, 1998; Bianchi *et al*, 2011), la zorra gris habita desde el extremo sur de Canadá hasta el norte de Venezuela y Colombia, salvo las montañas del noroeste de Estados Unidos y el oriente de América Central. (Fritzell and Haroldson, 1982), el coyote, es un canido con distribución completamente nearctica, Actualmente puede encontrarse desde el norte de Alaska hasta América central en Costa Rica (Bekoff, 1977), en donde se ha reportado extensión de su territorio más hacia el sur en bosques fragmentados (Cove *et al*, 2012).

La fragmentación y la pérdida del hábitat, además de la cacería furtiva llevada a cabo por los pobladores locales, debido al aumento en la demanda de pieles son las principales causas por las cuales el Ocelote, el tigrillo y el jaguarundi estén categorizados en peligro de extinción por la IUCN (Unión Internacional para la conservación de la Naturaleza), además de estar incluidas en el Apéndice I de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres); en México, el ocelote y el tigrillo se encuentra en la lista de especies de felinos neotropicales en peligro de extinción y el jaguarundi como especie amenazada, de acuerdo a la NOM-059-2010 (Norma Oficial Mexicana, 2010).

La identificación de rastros como huellas, madrigueras y heces, siempre ha sido una herramienta necesaria para el estudio ecológico de diversos hábitats principalmente para identificar la presencia de alguna especie en el ecosistema. Asimismo, ha sido importante conocer la dieta, ya que de igual forma se puede conocer la presencia de pequeños mamíferos que no son fácilmente muestreados por otras técnicas.

Diferenciar los rastros como las excretas, de algunos felinos simpátricos es complicado porque existe una gran semejanza entre estas. Aranda (2012), realizó una caracterización de estos rastros donde menciona que los felinos medianos como el tigrillo, el ocelote y el jaguarundi, son los que más pudiesen confundirse dado que sus heces presentan similares características morfológicas. Por esta razón se recomienda utilizar algunas otras técnicas que implican la extracción de ADN mitocondrial, contenido en las células epiteliales de la mucosa depositadas en las heces a su paso por el tracto (Sunquist y Sunquist 2002; Aliaga-Rossel et al. 2006, Khorozyan et al. 2007; Rueda, 2013).

La técnica de PCR-RFLP es una técnica en la cual pueden ser diferenciados organismos, mediante patrones derivados del corte de una cadena de ADN previamente amplificada, mediante enzimas de restricción también llamadas endonucleasas. Si dos organismos difieren en la distancia de sitios donde corta una enzima de restricción particular, la longitud de dichos fragmentos será diferente al digerirse el ADN con dicha enzima de restricción. Las similitudes o diferencias de los patrones generados en un gel de agarosa pueden ser utilizadas para diferenciar secuencias obtenidas de especies simpátricas. El objetivo del presente trabajo fue diferenciar mediante PCR-RFLP las heces

de diferentes especies de mesocarnívoros en la Reserva de la Biosfera Sierra del Abra Tanchipa, San Luis Potosí, México.

6.3 MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1 Extracción y amplificación de ADN.

La extracción de ADN de 125 muestras fecales recolectadas en campo se realizó con un QIAamp ADN Stool Mini Kit de la marca QIAGEN bajo un protocolo modificado por Loss *et al* (2010), el cual se dividió en dos días.

En el primer día se cortaron hojas finas de la corteza de cada excreta y se obtuvieron muestras de un promedio de peso de 200 mg; para ello, se utilizaron escarpelos nuevos para cada muestra, pinzas y cajas petri desechables. Las muestras y 1.5 ml del Buffer ASL se introdujeron en tubos eppendorf de 2 ml y mezclados suavemente. Algunas de las muestras presentaron grandes cantidades de pelos y material no soluble, por lo que se disolvieron 4 ml de buffer ASL, y se tomó una alícuota de 1.5 ml de cada muestra y se incubó a 65° C por 12 horas.

En el segundo día las muestras se centrifugaron durante tres minutos a 13,300 rpm; posteriormente, 1.5 ml de sobrenadante de cada muestra se transfirió a un tubo nuevo eppendorf de 2 ml, al cual se le añadió una tableta de Inhibitex procurando que esta quede disuelta completamente. Después de un minuto de incubación de la muestra a temperatura ambiente, para precipitar los restos de la tableta, la mezcla se centrifugó a 13, 300 rpm durante 12 minutos.

Una vez precipitados los restos de la tableta, del sobrenadante se tomaron 600 µl y se depositaron en tubos eppendorf de 2 ml, a los tubos con las muestras se les agregaron 25µl de proteinasa K. La mezcla líquida se agitó con cuidado para generar una solución homogénea, a la cual se le añadieron 600µl de buffer AL. La mezcla final se incubó a 70° C durante 15 minutos y se le agregaron 600µl de etanol al 100%, agitándola nuevamente durante 15 segundos hasta obtener una mezcla homogénea.

De la mezcla homogénea se tomaron 600µl y se depositaron a un QIAamp spin column con un tubo de recolección de 2ml y se centrifugaron a 13,300 rpm durante un minuto descartando el sobrenadante. Estos pasos se repiten hasta que toda la muestra es filtrada; se transfiere la columna a un tubo limpio de colección y se agrega 500µl de buffer AW1, se centrifuga a 13,300 rpm durante un minuto, el filtrado se desecha y se agregan 500µl del buffer AW2, se centrifuga a 13,300 rpm desechando el filtrado y se centrifuga nuevamente a la misma velocidad por 2 minutos, la columna de filtrado es transferida a un tubo eppendorf de 1.5 ml y se agregan dentro de la columna 60µl de buffer AE directamente en la membrana, se deja incubar durante una hora a temperatura ambiente, se realiza un segundo lavado a la columna siguiendo los últimos pasos, hasta obtener un volumen de 120µl de la solución final con ADN, la cual se etiquetó y almacenó a -20° C.

En este trabajo se utilizaron dos pares de oligonucleótidos (*primers*), el primer par es un oligonucleótido específico para cinco especies de felinos neotropicales (MxCtF 5'-CCATCCAACATCTCAGCATGATG-3' y MxCtR 5'-GAGGCTCCGTTGGCATGTAT-3'), el cual se desarrolló por García (2010) donde amplificaron fragmentos del gen citocromo b de ADN mitocondrial. Estos fragmentos están reportados en el GenBank con número de acceso FJ490207 (165bp) Ocelote (*Leopardus pardalis*), FJ490207 (165bp) Jaguarundi (*Puma yaguaroundi*) y FJ490209 (165bp) Tigrillo o Margay (*Leopardus wiedii*). El segundo par de oligonucleótidos amplifica un fragmento del gen citocromo b de ADN mitocondrial y fueron usados por Bidlack *et al* (2007), una parte se desarrolló por ellos (HCarn200; 5'-ATTCAGCCRTARTTAACGTC-3') para usarse en conjunto con otro (CanidL1; 5'-AATGACCAACATTCGAAA-3') desarrollado por Paxinos, *et al* (1997). Estos oligonucleótidos amplifican fragmentos de 234 pb, este "*primer*" no es específico, ya que amplifica fragmentos de las especies ya mencionadas, además del coyote (*Canis latrans*), Zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y Gato montés (*Lynx rufus*). Asimismo, amplifican fragmentos de perro (*Canis familiaris*) y gato doméstico (*Felis catus*).

La amplificación de PCR del ADN extraído de las heces se realizó usando 100ng/µl de ADN, 1 x de buffer de reacción, 2.5 mM de MgCl₂, 0.2mM (200µM) de dNTP, 20µM de cada "*primer*" y 1.5 unidades por reacción de *Taq* polimerasa, para una reacción de 25µl de volumen total, una incubación inicial en termociclador de 94° C por 3 minutos, 40 ciclos a 94° C por 1min, 54°C por 1 min y 72° C por 2 min, y una temperatura final de

extensión de 72° C por 5 min. En cada prueba se agregaron muestras positivas y negativas como control.

Para validar el ADN extraído de las excretas se requirió material genético utilizado como muestras control, el cual se obtuvo de folículos de ocelote, gato montés, jaguarundi, tigrillo y zorra gris en cautiverio, así como de folículos de perro y gato y una muestra de tejido de puma. Las muestras se almacenaron en alcohol etílico al 70%. El ADN de las muestras se extrajo y se amplificó con el Phire Animal Tissue Direct PCR Kit, de la marca Thermo Scientific; donde las muestras se secaron a temperatura ambiente y se cortaron con un escarpelo limpio a no más de 5 mm de largo a partir del inicio del folículo. Se colocaron 10 folículos dentro de un tubo para PCR a los cuales se les agregó 25µl de 2x Phire Animal Tissue PCR Buffer, 25 µM de cada oligonucleótido y finalmente 1 µl de Phire Hot Start ADN Polymerase. Las muestras se colocaron en un termociclador, a una temperatura inicial de desnaturalización de 98°C por 5 min, seguida de 40 ciclos a 98° C por 5 seg, 54° C por 5 seg y 72° C por 20 seg; con una temperatura final de extensión de 72° C por 1 min.

6.3.2 PCR-RFLP

Los productos de PCR de las muestras control se secuenciaron y fueron sometidas a prueba de BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) para verificar las similitudes con otras secuencias reportadas del gen citocromo b en GENBANK. Una vez verificadas las secuencias de los fragmentos del gen citocromo b para diferentes especies de mesocarnívoros y procediendo con el método de PCR-RFLP se realizó la búsqueda de las enzimas de restricción (endonucleasas) importando las secuencias al programa On Line NebCutter v. 2.0, (New England Biolabs), donde se identificaron las enzimas de restricción utilizadas para determinar los fragmentos de restricción y, de esta manera, generar los controles positivos e identificar las muestras fecales. Las reacciones enzimáticas fueron de un volumen total de 15 µl, compuesto por 1.5µl de 10x buffer, 1 µl de enzima (5U) y 1 - 2 µl de producto de PCR (dependiendo de la intensidad de la banda generada por este producto) y agua (Milli-Q) para el resto del volumen de la reacción. En cada evento de reacciones se agregaron muestras positivas y negativas como control.

6.3.3 Geles de agarosa.

Las muestras de ADN, productos de PCR y PCR-RFLP se corrieron en geles de agarosa por electroforesis (1% ADN y 2% productos de PCR) con bromuro de etidio. La electroforesis se realizó para determinar la presencia e integridad de ADN, verificar la eficiencia de amplificación por PCR e identificar el patrón de bandeo (generado por las reacciones enzimáticas) de cada especie.

6.4 RESULTADOS.

6.4.1 Extracción y amplificación de ADN

De 125 heces recolectadas (60 en caminos y 65 en una letrina), se logró extraer el ADN de 108 (86.4%) muestras, mediante el QIAamp ADN Stool Mini Kit de la marca QIAGEN (Figura 2).

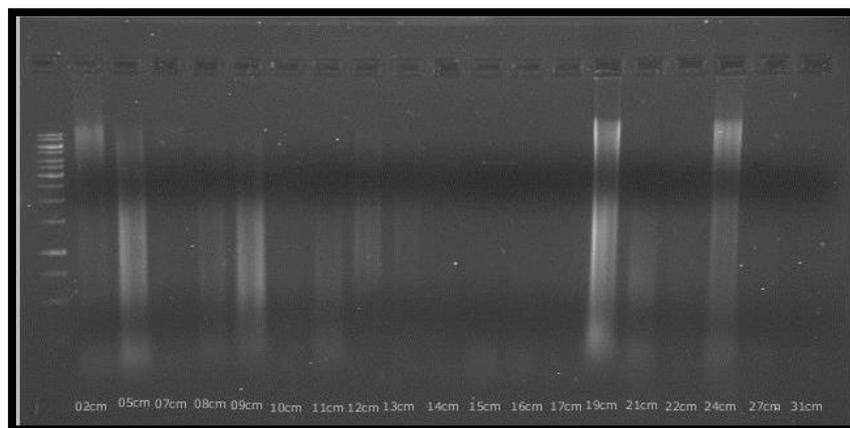


Figura 2. Marcador de 1 kb y ADN degradado extraído de las heces colectadas

Aunque el ADN extraído de las muestras fecales, presenta un barrido (prueba de una baja integridad del ADN), la concentración en muchas de las muestras fue mayor a 100ng/μl, aquellas con concentraciones menores a 50ng/μl se descartaron del estudio. En todas las muestras con barrido se pudo realizar la amplificación por PCR. Con el “*primer*” específico para felinos (García (2010)) se amplificó el 91% de las muestras (Figura 3), las muestras no amplificadas anteriormente se sometieron a la amplificación con el “*primer*” no específico reportado por Bidlack *et al* (2007), donde se amplificó el 9% restante (Figura 4).

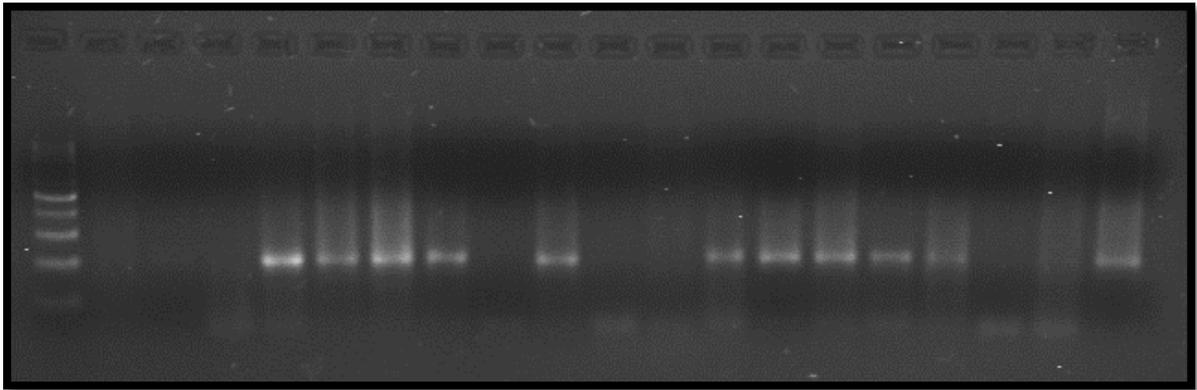


Figura 3. Marcador de 100 bp y amplificación con “*primer*” específico de felinos del ADN extraído de muestras fecales

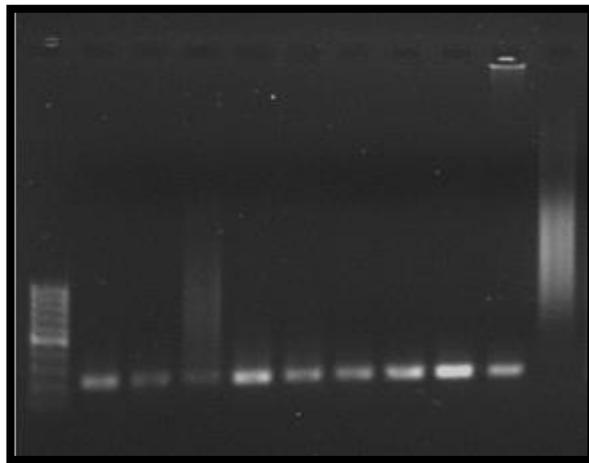


Figura 4. Marcador de 100 bp y amplificación con “*primer*” no específico del ADN extraído de muestras fecales.

En los geles de agarosa de la figura 3 y 4 se observan las amplificaciones obtenidas mediante el uso de dos pares de “*primers*”; el primer par (Figura 3) de “*primers*” son especies-específico diseñado por García et al (2010) para amplificar secuencias cortas del gen citocromo b de cinco especies de felinos simpátricos, se puede distinguir la amplificación de la mayoría de las muestras, lo cual nos indicó en primera instancia que la mayoría (90%) de las muestras pertenecían a alguno de estos cinco felinos; bajo la incógnita de conocer el origen de las muestras no amplificadas por el primer par de “*primers*” se utilizó un par reportado por Bidlack *et al* (2007) donde se amplificaron el resto de las muestras, lo que hizo pensar que el resto de las muestras pertenecían a algún otro carnívoro diferente a los cinco anteriormente identificados.

La amplificación de ADN de las muestras control, mediante el Phire Animal Tissue Direct PCR Kit se realizó con ambos “*primers*”, con el “*primer*” no específico las muestras correspondientes a felinos se amplificaron pero la banda en el gel de agarosa se observa tenue a diferencia de las bandas correspondientes a los folículos de los canidos muestreados (Figura 5); para el caso del “*primer*” específico para felinos se puede observar una tenue banda para el gato doméstico y para el gato montés, en el caso de los canidos no se observa amplificación alguna y para las muestras control de felinos como el ocelote, tigrillo, jaguarundi y puma las bandas se marcaron en su totalidad (Figura 6).

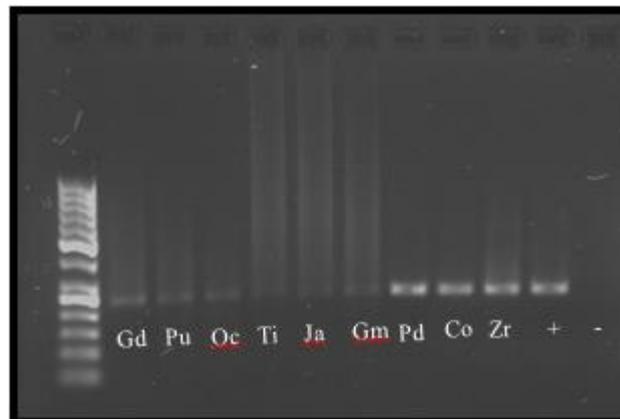


Figura 5. Amplificación con “*primer*” no específico de muestras foliculares. De izquierda a derecha marcador de 50 bp, Gd: Gato doméstico, Pu: Puma, Oc: Ocelote, Ti: Tigrillo, Ja: Jaguarundi, Gm: Gato montés. Pd: Perro doméstico, Co: Coyote, Zr: Zorra gris, (+) Control positivo (Pd),(-) Control negativo.

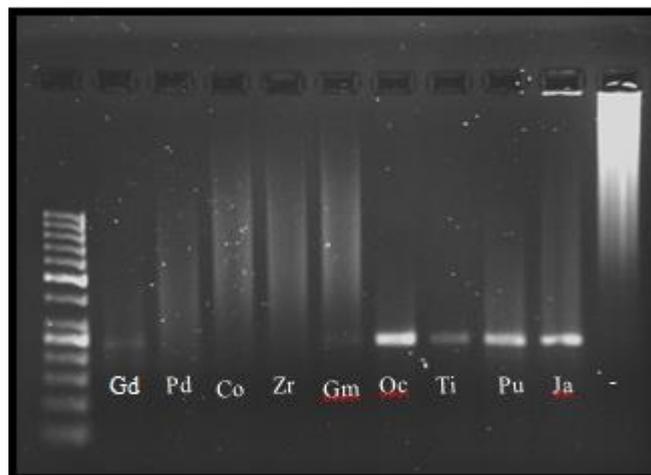


Figura 6. Amplificación con “*primer*” específico de muestras foliculares. De izquierda a derecha marcador de 50 pb, Gd: Gato doméstico, Pu; Puma, Oc: Ocelote, Ti: Tigrillo, Ja: Jaguarundi, Gm: Gato montés. Pd: Perro doméstico, Co: Coyote, Zr: Zorra gris, (-) Control negativo

Las amplificaciones de las muestras control de 9 especies de carnívoros para el gen citocromo b de ADN mitocondrial se observan en la Tabla 1.

Tabla 1. Fragmento de la secuencias del gen citocromo b obtenidas de la amplificación de ADN de folículos de 9 especies de carnívoros.

Especie	Secuencia	bp
<i>Puma concolor</i>	GAGGGGATGATCTCCTCCCAACATTTTCAGCATGATGAAACTTTGGCTCCCTACTAGGGGTCTGCCTAAT CCTACAAATCCTAACCAGGCTCTTTCCTGGCCATACACTATACATCAGACACAATGACTGCCTTTTCATC AGTCACTCACATCCTGTCCGACGTCAAACCTACG	172
<i>Leopardus pardalis</i>	TGGGTCTTATTAGCAGTTTGCCTACTTTTTACAGATTCTCACAGGCCTCTTTCTAGCCATACACTATACA TCAGATACAGCAACCAGCCTTTTCCATCATTTTACCCAGATCTGCCGCGACGTCAACTATGGCTAAATCAT CCGATACATACATGCCAACGGAGCCTCA	168
<i>Puma yagouaroundi</i>	GGTTCCTTAATAGGAGTCTGCCTAATCCTACAGATTCTGACCCGCCTATTCTAGCCATACACTACACA TCAGACACAACAACCAGCCTTCTCATCAGTACCCACATCTGCCGCGACGTTAACTAGGGCTGAATCAT AGATATACATGCCAACGGGGCTTCCA	167
<i>Leopardus wiedii</i>	GGTCTCTTATTAGGAGTTTGCCTAATCCTACAAATTCTCACTGGCCTTTTCTAGCTATACACTACACAT CAGACACCACAACCAGCCTTTCTCATCAGTTACCCACATCTGCCGCGACGTCAACTATGGCTGAATTATCC GATACCTACATGCCAACGGAGCCTCC	165
<i>Felis catus</i>	AATCACACCCCGTTATCAACATTATTACTCACTCATCCATCGATCTACCTAGCCCATCTTACATCTCAGC ATGATGAAACTTCGGCTCCCTTCTAGGAGTCTGCCTAACCTTACAAATCCTCACCAGCCTCTTTTGGCC ATACACTACATCAGACACAATAACCAGCCTTTTCATCAGTTACCCACATCTGTCCGCGACGTTAACTAC GGCTGAATAATCCGATATTTACAC	233
<i>Lynx rufus</i>	AAAGTCACACCGTATTACTAAAGTATACAACCGATAATTCATCGATTACCCGCCCCATCAACATCTCA GCATGATGAAACTTCGGCTCCCTGTAGGAGTCTGCCTAATCCTACAGATCCTCACCAGCCTCTTTCCTA GCCATACACTACATCAGACACGTAACCAGCCTTTTCATCAGTACCCATATCTGCCGCGACGTTAAC TATGGCTGAATAATCCGATAC	228
<i>Canis familiaris</i>	AAAACCCACCCACTAGCCACAATTGTTAATAAATCATTATTGACCTCCAGCGCCGTCTAACATCTCT GCTTGATGGAACCTTCGGATCCTTACTAGGAGTATGCTTGATTCTACAGATTCTAACAGGTTTATTCTTAG CTATGCACTATACATCGGACACAGCCACAGCTTTTTCATCAGTACCCACATCTGCCGAGACGTTAACT ACGACTGAATTATCCGCA	226
<i>Canis latrans</i>	CACCCACTATGCAAAGTTGTCAATAAATCATTATTGACCTCCAGCGCCATCTAACATCTCTGCTTGAT GGAATTTCCGATCCTTACTAGGAGTATGCTGATTCTACAGATTCTAACAGGTTTATTTTAGCTATACA CTATACATCGGACACAGCCACAGCTTTTTCATCAGTACCCACATCTGTGAGACGTTAACTACGGCTG AATTATCCGCTACATACA	227
<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	AAAACCCACCCGCTCGGTAATAATCGTCAACAGCTCGTTCATCGACCTACCTGCACCATCTAACATTTCT GCATGATGGAACCTTCGGTCCCTGTAGGAATCTGCCTTATTCTACAGATTATAACAGGCTTATTCTTG GCCATACACTATACATCAGATACCGCTACAGCCTTTTCATCCGTTACCCATATCTGTGAGACGTTAACT TACGGCTGAATAATCCGCTATAT	230

Las similitudes arrojadas por el BLAST de las secuencias obtenidas correspondieron en más del 90% para cada especie, en las secuencias obtenidas felinos neotropicales, fue identificada la enzima *HpaII* la cual no tuvo efecto sobre la secuencia de ocelote y tigrillo, pero si sobre las secuencias de puma y jaguarundi, la primera fue cortada a la altura de la base 85, generando dos fragmentos de similar tamaño, la secuencia jaguarundi fue cortada a la altura de la base 42, generando de esta manera dos fragmentos de restricción, el primero con una longitud de 42 bp y el segundo con una longitud de 125 bp (Figura 7^a). Para las secuencias del tigrillo y jaguarundi, se identificó la enzima *Hae III* para usarse en conjunto con la enzima *Mbo I*, seccionando la secuencia de tigrillo a la altura de la base 44, para obtener dos fragmentos, el primero con una longitud de 44 bp y el segundo de 121 bp, esto permitió diferenciar los tres fragmentos generados por este mismo par de enzimas para la secuencia del ocelote, dos de 61bp y uno de 46bp (Figura 7^b)

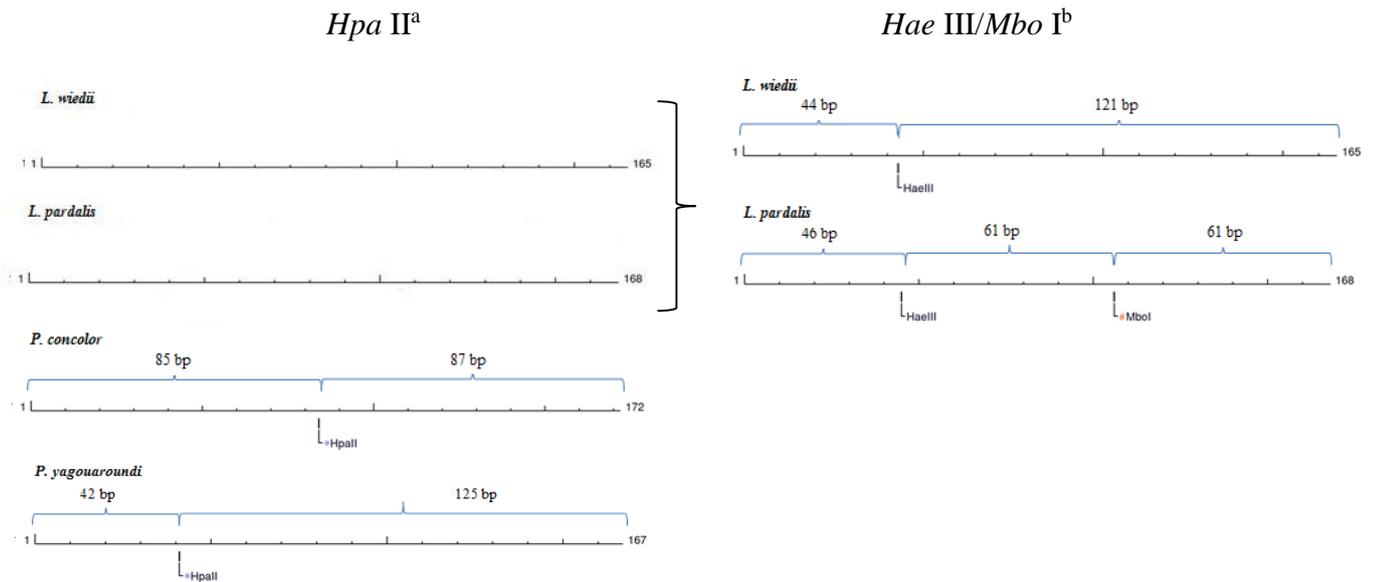


Figura 7. Patrones de corte creados por las enzimas de restricción *HpaII*, *HaeIII/MboI* para cuatro especies de felinos

En el gel de agarosa se puede observar la presencia de una banda ya que ambos fragmentos en el uso de la enzima *HpaII* para puma son similares en tamaño (85pb y 87pb) (Figura 8), para la misma enzima en el caso de jaguarundi puede observarse la formación de dos bandas cada una de diferente tamaño, la banda inferior es de 42 bp y se presenta de una forma tenue, la banda superior es de 125 bp y se puede observar fácilmente (Figura 8). En el uso conjunto de las enzimas de restricción *Hae III* y *Mbo I* para las secuencias de tigrillo y ocelote, se pudo observar en un gel de agarosa la presencia de dos bandas para el ocelote generadas por tres fragmentos, dos de 61 bp, lo que hace que se observe solo una banda, y otro fragmento más pequeño de 46 bp, este mismo par fue usado en la secuencia de tigrillo, donde solo actuó la enzima *Hae III*, generando dos bandas fácilmente visibles en el gel de agarosa, una de 44 bp y otra más grande de 121bp (Figura 9).

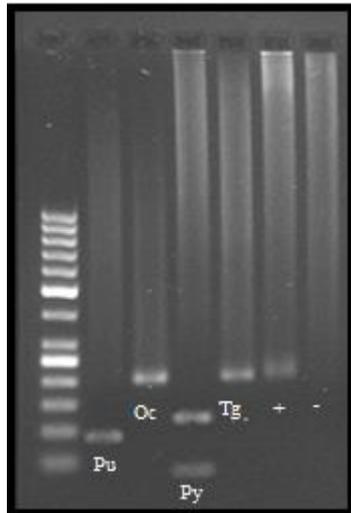


Figura 8. Identificación de felinos con *HpaII* .De izquierda a derecha marcador de 50 pb, Pu. Puma, Oc. Ocelote, Py. Jaguarundi, Tg. Tigrillo, Control positivo (+), Control negativo (-)

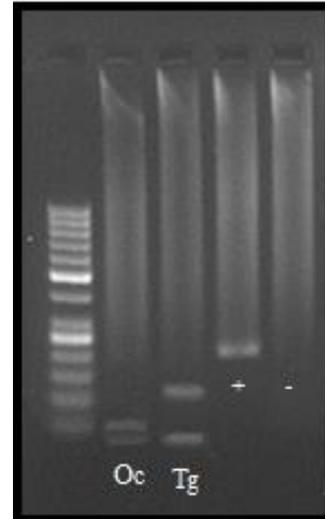


Figura 9. Identificación de felinos con *HaeIII/MboI* De izquierda a derecha marcador de 50 pb, Oc. Ocelote, Tg. Tigrillo,Control positivo (+), Control negativo (-)

En el caso de las muestras amplificadas con el “*primer*” no específico, se localizó la enzima *MluC* I, donde se observaron dos sitio de restricción en la base 20 y la 215 para el perro, generando tres fragmentos de restricción, el primero de un tamaño de 20 bp, el segundo de 195 bp y el tercero de 11 bp; en la secuencia del coyote se observaron de igual manera dos sitios de restricción en la base 72 y 209, generando tres fragmentos de 72bp, 137bp y 18 bp respectivamente (Figura 10^a), las secuencias de zorra gris, gato montés y gato doméstico no fueron cortadas por esta enzima, por lo tanto fueron identificadas las enzimas *Hae* III y *Mbo* I, las cuales fueron usadas en conjunto identificando zonas de restricción a la altura de la base 139 en la secuencia de la zorra gris, generando dos fragmentos, el primero de 139bp y otro de 91bp por la acción simple de la enzima *Hae* III, en la secuencia del gato montés se encontraron dos sitios de restricción a la altura de la base 116 y en la base 128, generando tres fragmentos de 116 bp, 12 bp y 100 bp, la secuencia del gato doméstico presento tres sitios de restricción a la altura de la base 41, 127 y 138, por lo tanto se obtuvieron cuatro fragmentos de restricción de 41bp, 86bp, 11bp y 95 bp (Figura 10^b).

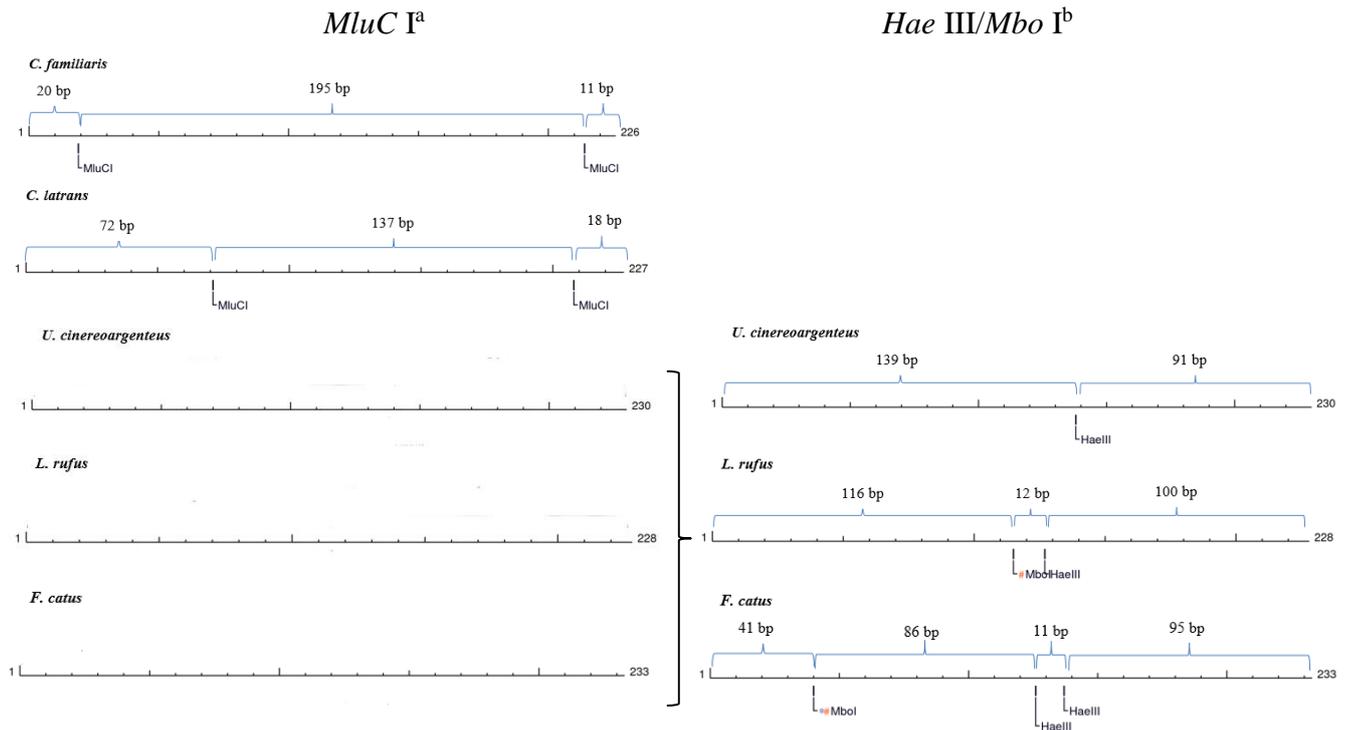


Figura 10. Patrones de corte creados por las enzimas de restricción *MluC I* y *Hae III/Mbo I* para secuencias generadas por el “primer” no específico.

La enzima *MluC I* genero visiblemente dos bandas en la muestra de perro doméstico, una de aproximadamente 195 bp y la segunda de 20 bp, para la muestra de coyote fueron fácilmente observables tres bandas, la primera de 137bp, seguida de una de 72 bp y la última apenas visible de 18 bp, no fue observada ninguna acción de esta enzima en las muestras de zorra gris, gato montés y gato doméstico (Figura 11), las cuales fueron sometidas a la acción *Hae III* y *Mbo I* en conjunto para diferenciar estas tres especies, para la zorra gris se observó la presencia de dos bandas una de 139bp y la otra de 91bp, diferenciando de esta manera la muestra de gato montés, de la cual solo se pudo observar una banda generada por dos fragmentos de restricción, los cuales tienen un tamaño de 116 y 100 bp, por ser tan semejantes en tamaño es solo visible una banda, en la muestra del gato doméstico, se observaron dos bandas, la primera formada por dos fragmentos de restricción de 95 y 86bp y la segunda banda apenas visible por un fragmento de 41bp (Figura 12).

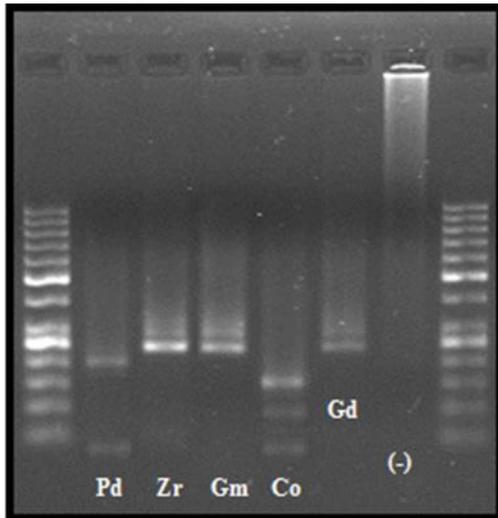


Figura 12. Identificación de especies con *MluCI*. De izquierda a derecha marcador de 50 pb, Pd: Perro doméstico, Zr: Zorra gris Gm. Gato montés Co. Coyote Gd: Gato doméstico, (-) Control negativo

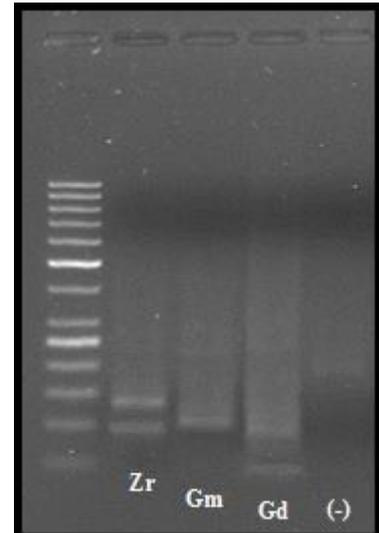


Figura 11. Identificación de especies con *HaeIII/MboI*. De izquierda a derecha marcador de 50 pb, Zr. Zorra gris Gm. Gato montés Gd: Gato doméstico, (-) Control negativo

De 125 heces recolectadas en campo (60 en caminos y 65 en una letrina), se identificaron con PCR/RFLP 108 (86%) heces. De ellas, 82 correspondieron a ocelote (*Leopardus pardalis*), 11 fueron de zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), 6 de puma (*Puma concolor*), 6 de jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y 3 de tigrillo (*Leopardus wiedii*). (Figura 13).

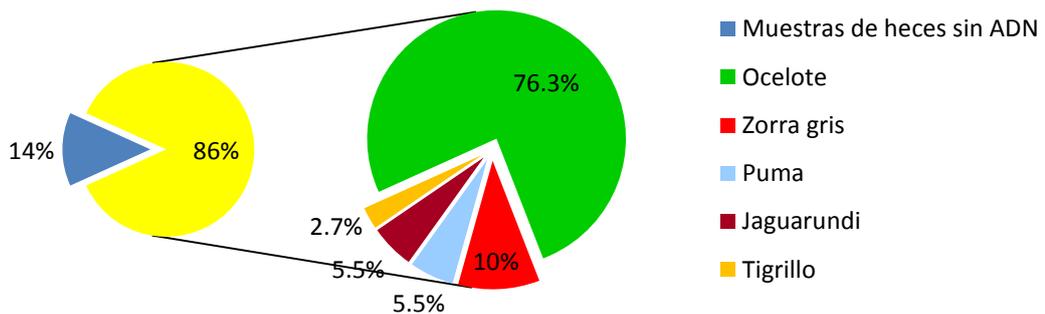


Figura 13. Porcentaje de muestras identificadas por PCR-RFLP por especie de mesocarnívoros.

De las 60 heces colectadas en caminos solo se lograron identificar 51 (85%), 35 (68%) de ocelote, 3 (6%) de tigrillo, 5 (10%) de jaguarundi y 8 (16%) de zorra gris; y de 65 colectadas en una letrina se lograron identificar 57 (87%), ocelote 47 (82.5%), 6 (10.5%) de puma, una (1.7%) de jaguarundi, 3 (5.3) de zorra gris (Figura 14).

6.5 DISCUSIÓN.

Es de suma importancia identificar con precisión las muestras no invasivas que se obtienen en campo, sobre todas aquellas que nos brindan información relacionada a la ecología de cierta especie, ya que existen una diversidad de riesgos de cometer errores al hacer identificaciones en campo de rastros que pertenezcan a especies de tamaños similares, y hábitos alimenticios similares y sobre todo de distribución simpátrica (Haag et al, 2009; Aranda, 2013 y Rosas –Rosas et al 2003);

En este trabajo la recolección de muestras se realizó bajo la premisa de encontrar e identificar y coleccionar de acuerdo a la morfología señalada por Aranda (2013) todas las heces que fueran similares a la descripción para ocelote, además de que se encontraron algunas más pequeñas que se recolectaron de igual forma y como se puede observar en los resultados fueron colectadas un total de 125 heces (60 en caminos y 65 en una letrina) de las cuales se identificaron por análisis moleculares 108 (86.4%) muestras, de las cuales 82 corresponden (75.3%) a *Leopardus pardalis*, 11 (10%) a *Urocyon cinereoargenteus*, 6 (5.5) a *Puma concolor*, 6 (5.5) *Puma yagouaroundi* y 3 (2.7%) a *Leopardus wiedii* (Figura 11). En base a estos resultados se puede determinar que en ocasiones, puede ser engañosa la identificación por su morfología y se puede llegar a sobre estimar los estudios relacionados a los hábitos alimenticios.

Davison *et al.* (2002) describen que la extracción y amplificación de ADN fue satisfactoria para el 53% de un total de 163 heces colectadas, de las cuales el 18% anteriormente identificadas como de marta (*Martes martes*) en realidad pertenecían a zorros (*Vulpes vulpes*) identificados por el ADN y solo una muestra de marta fue identificada por ADN, todas las otras muestras supuestamente de martas fueron de zorros y hurón (*Mustela putorius*); por lo tanto marca que uno de los problemas principales de los trabajos moleculares con heces, solamente una proporción de las muestras tiene la suficiente calidad de ADN para ser amplificadas por PCR ya que muchas and sufrido alteraciones por la acción del sol y la lluvia, disminuyendo la cantidad y calidad de ADN. De esta forma propuso que para mejorar los trabajos de colecta de muestras y aumentar el número de estas, para tener una mayor representatividad se puede considerar la posibilidad de usar perros entrenados para la búsqueda de heces en campo. Una situación similar ocurrió en el presente trabajo donde 17 muestras no presentaron ADN de calidad y por lo

tanto no se pudo amplificar. Las muestras que no se pudieron identificar fueron muestras viejas y sumamente dañadas o intemperizadas. Asimismo, se plantea aumentar el número de heces recolectadas con el uso de perros entrenados

Long *et al.* (2007), demostraron que los perros para detectar heces de carnívoros pueden ser muy eficaces cuando obtienen la capacitación y el entrenamiento adecuado. El uso de perros puede aumentar de 5 a 15 veces el número de heces recolectadas por especie. Asimismo, describieron la dificultad para distinguir, a partir de diferencias morfológicas, las heces de coyote y gato montés, y las de mapaches y osos pequeños.

Las concentraciones de ADN en las muestras fueron de 100 a 500 ng/μl, esta gran cantidad de ADN extraído de las muestras se debe a que se usó un protocolo modificado por Loss *et al.* (2010) para QIAamp ADN Stool Mini Kit de la marca QIAGEN, en donde se aumenta el tiempo de lisis, además la cantidad de muestra usada también se aumentó, en diversos trabajos esta reportado el uso de este kit para la extracción de ADN de muestras fecales, Deagle *et al.* (2005), Kurose *et al.* (2005), Miotto *et al.* (2007), Mondol *et al.* (2009) y Morin *et al.* (2001) reportaron concentraciones de ADN mayores a 300 ng/μl.

La extracción de ADN de folículos resulto exitosa teniendo en su totalidad de las muestras el ADN necesario para la técnica de PCR-RFLP, Ruell and Crooks (2007), mencionan que la extracción de ADN y la amplificación por PCR, de folículos de carnívoros resulta difícil ya que el tamaño del folículo en felinos es pequeño, además que estos contienen una gran cantidad de inhibidores de PCR principalmente la melanina (Wilson *et al.* 1995), por esto reporto una amplificación de menos del 50 % de sus muestras foliculares, lo mismo fue reportado por Garcia (2010) mediante la extracción de ADN de folículos con un Kit de QIAGEN para tejidos.

La acción de los inhibidores de PCR disminuye con el uso de Phire Animal Tissue Direct PCR Kit, ya que contiene una ADN polimerasa llamada de corrección de pruebas, fusionada por medio de una proteína de unión a un ADN de doble cadena (dsADN) pequeño, creando una ADN polimerasa que genera productos de PCR más rápidamente, además que brinda una mayor tolerancia contra diversos inhibidores de PCR.

Cabe señalar que previo al uso de en folículos para las muestras control, se realizó la extracción del ADN de folículos de carnívoros mediante una técnica propuesta por Alberts *et al* 2010, ellos obtuvieron muestras con concentraciones mayores a los 300ng/μl, sin embargo en este estudio solo se logró satisfactoriamente la extracción de ADN folicular para el perro doméstico y la zorra gris, obteniendo concentraciones de 322ng/μl y 572 ng/μl respectivamente, estas muestras de ADN fueron amplificadas por el mismo procedimiento de PCR que se realizó al ADN extraído de las heces, y los productos de la amplificación usados como controles positivos en la amplificación de folículos por el método de Phire Animal Tissue Direct PCR Kit; en este método de igual manera fueron usados los dos pares de “*primers*” mencionados anteriormente, y se observó una amplificación de las muestras de cada una de las especies con el “*primer*” no específico (Figura 5) y una amplificación de las muestras de felinos con el “*primer*” *especie-especifico* (Figura 6).

Las secuencias obtenidas mostraron valores en cuanto al número de pares de bases en el caso de los felinos de 165 a 172bp, lo cual corresponde a lo reportado por García (2010), donde obtuvo secuencias de 170 bp para las cinco especies de felinos que reporto, la prueba de BLAST realizada a las secuencias, arrojo valores del 90 al 98 % de similitud con secuencias del gen citocromo b contenidas en el GENBANK, la máxima similitud ocurrió con las secuencias reportadas por García (2010), las secuencias para los canidos, gato doméstico y gato montés se encuentran en el rango de 226 a 233 bp lo cual concuerda con Bidlack *et al* (2007), ellos reportaron secuencias de 234 pb y la prueba de BLAST arrojo grandes similitudes del 87 y 95% a las secuencias reportadas en el GENBANK del gen citocromo b para el gato doméstico, gato montés, perro doméstico, coyote y zorra gris.

En este estudio para la técnica de PCR-RFLP fueron usados dos pares de “*primers*” para amplificar fragmentos del gen citocromo b de ADN mitocondrial, uno *especie especifico* que nos permitió identificar las heces de cinco especies de felinos neotropicales generando fragmentos de aproximadamente 170bp, y se usaron las enzimas de restricción *Hpa* II, *Hae* III y *Mbo* I; el segundo es un par de “*primers*” no especie-especifico, pero diseñado para identificar principalmente heces de canidos, los fragmentos obtenidos fueron de aproximadamente 230 bp, usando las enzimas *MluC* I, *Hae* III y *Mbo* I, la primera amplificación con los “*primers*” nos permitió identificar las heces de felinos y las de canidos para posteriormente identificar las especies con la ayuda de las enzimas de

restricción; lo mismo fue realizado por Zuercher *et al* (2009), quienes desarrollaron tres “*primers*” para el gen citocromo b del ADN mitocondrial para distinguir en primera instancia felinos pequeños, felinos grandes y canidos, y posteriormente identifico cada una de las especies con la ayuda de las enzimas de restricción *BamH I*, *Dde I*, *Btg I*, *Alu I*, *Hph I*, *Rsa I*, *Cla I*, *Hpa II* y *Mnl I*; una metodología similar fue realizada por Mukherjee *et al* (2010), desarrollaron dos pares de “*primers*” para amplificar secuencias del gen mitocondrial 16S rRNA para diferentes especies de carnívoros de la India, uno fue diseñado para amplificar secuencias de felinos y otro para secuencias de canidos, las enzimas de restricción que usaron para identificar cada una de las especies fueron *Taq I*, *Hae III*, *Ase I*, *Nla III*, *Pac I*, *Xsp1/Bfa I*, *Bsm I* y *Ssp I*; ambos estudios concluyen que el uso de dos “*primers*” para separar los productos de PCR de canidos y felinos ayudo a incrementar la eficiencia en cuanto a la identificación de ADN de cada uno de los carnívoros.

Algo similar realizaron Mills *et al* (2000), en donde para distinguir las heces de 4 especies de felinos de otros depredadores amplificaron por separado mediante PCR, dos porciones de ADN mitocondrial, una de estas fue la región control, usando los “*primers*” descritos por Kocher *et al* (1989), observaron que los productos obtenidos por esta amplificación para los felinos era mayor a las 700bp y para mustélidos, canidos y úrsidos los productos eran menores a 500bp, la otra porción amplificada fue usando un “*primer*” universal para 16S rARN donde obtuvieron secuencias de 360 bp y usaron 3 enzimas de restricción para diferenciar las especies de felinos, mencionan que la enzima *Hae III* digiere los productos de PCR de 4 especies de depredadores, pero no de otras especies; lo mismo fue descrito por Cossíos y Angers (2006) quienes mencionan que las enzimas *Dra I* y *Hae II* discriminan las secuencias de felinos obtenidas por PCR con los “*primers*” desarrollados por ellos para el ADN mitocondrial 16S ribosomal.

El hecho de tener una gran cantidad de muestras fecales de ocelote tanto en caminos como en letrinas está estrechamente relacionado a las actividades que este realiza. Emmons, (1988) describe que el ocelote frecuenta senderos para desplazarse, además de buscar presas potenciales. De acuerdo a Konecny (1989), los ocelotes depositan su heces y orinan en caminos, para delimitar su área de actividad, y que pueden concentrar sus heces formando una letrina, mismas que pueden ser usadas para proporcionar información intraespecífica, como el sexo, edad, estatus reproductivo y posiblemente la identidad de

cada individuo (Kitchener, 1991). Las heces recolectadas en letrinas ayudan a monitorear su comportamiento, obtener información acerca de la dieta y sus interacciones sociales (Moreno and Giacalone, 2006); además de que las letrinas pueden también ser usadas por individuos de otras especies (Ludlow and Sunquist, 1987). En nuestro estudio, las letrinas contuvieron heces de otros carnívoros, principalmente de Puma, Hernández-Guzman *et al.* (2011) mencionan que en un estudio encontraron 7 letrinas frecuentadas por pumas.

6.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La escatología molecular es una técnica exitosa que permite identificar hasta el 90% de heces cuando éstas se encuentran en buen estado y son conservadas adecuadamente para su análisis: Actualmente las técnicas moleculares son más económicas y por lo tanto accesibles, y con el uso de kits y tecnología, éstas disminuyen el tiempo de análisis de las muestras.

En este estudio, la técnica de PCR-RFLP permitió identificar el 86% de las heces de carnívoros. Sin embargo, se recomienda que para que la técnica de PCR-RFLP sea más efectiva, la identificación de muestras fecales se realice entre muestras de una misma población, ya que pueden ocurrir discrepancias en los patrones de bandeo para la misma especie en diferentes poblaciones, las cuales pueden ser causadas por variaciones de polimorfismos en las secuencias objetivo. También se recomienda realizar pruebas de BLAST para evitar errores durante las secuenciaciones de los fragmentos amplificados.

Asimismo, se recomienda aumentar el número de muestras con el apoyo de perros entrenados, y de esta manera, obtener mayor representatividad de algunas otras especies de difícil muestreo. Se recomienda que los trabajos futuros mediante técnicas moleculares (métodos no invasivos) se relacionen con la identificación de sexos y con la estimación del tamaño poblacional en la región estudiada.

6.7 LITERATURA CITADA.

- Alberts C.C., Ribeiro-Paes J. T., Aranda-Selverio G., Cursino-Santos J. R., Moreno-Cotulio V. R. Oliveira A. L. D., Porchia B. F. M. M., Santos W. F., and Souza E.B. 2010. ADN extraction from hair shafts of wild Brazilian felids and canids. *Genetics and Molecular Research* 9 (4): 2429-2435.
- Aranda Sanchez J.Marcelo., 2013. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 43 pp.
- Bidlack AL, Reed SE, Palsbøll PJ, Getz WM: Characterization of a western North American carnivore community using PCR-RFLP of cytochrome b obtained from fecal samples. *Conserv Genet* 2007, 8:1511-1513.
- Cossíos D. and Angers B: Identification of Andean felid species using PCR-RFLP. *Mastozool Neotrop* 2006, 13:239-244.
- Davison A., Birks J D., Brookes R.C., Braithwaite T. C. and Messenger J. E.,2002. On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal Zoological London: 257.* 141-143.
- Deagle B. E., Tollit D. J., Jarman S. N., Hindell M. A., Trites A. W. and Gales N. J. 2005. Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey ADN in scats from captive Steller sea lion. *Molecular Ecology* 14: 1831-1842.
- Emmons, L.H. 1988, A field study of ocelots (*Felis pardalis*) in Peru. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, vol. 43.pp 138-139.
- Garcia Alaniz, Nashieli. 2010. Field and genetics methodologies for the study of felids in the Selva Lacandona, Chiapas Mexico: A Noninvasive Approach. ProQuest Dissertations & Theses: The sciences and Engineering Collection.
- Haag T., Santos A. S., De Angelo C., Srbek-Araujo A. C., Sana D. A., Morato R G., Salzano F.M. and Eizirik E. 2009. *Development and testing of an optimized method for ADN-based identification of jaguar (Panthera onca) and puma (Puma concolor) faecal samples for use in ecological and genetic studies. Genetica* 136: 505-512.
- Hernández-Guzmán A., Payán E. y Monroy-Vilchis O. 2011. Hábitos alimentarios del *Puma concolor* (Carnivora: Felidae) en el Parque Nacional Natural Puracé, Colombia. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 53 (3): 1285-1294.
- Khorozyan I. G., Cazon A., Malkhasyan A. G., and Abramov A. V. 2007 Using Thin-Layer Chromatography of Fecal Bile Acids to Study the Leopard (*Panthera pardus ciscaucasica*) *Population Biology Bulletin*, 2007, Vol. 34, No. 4, pp. 361–366.
- Kitchener, A. 1991. The natural history of the wild cats. Comstock Publishing Associates, New York, USA. 280 pp.

- Konecny Michael J. 1989. Movement Patterns and Food Habits of Four Sympatric Carnivore Species in Belize, Central America. *Advances in Neotropical Mammalogy*, 243-264.
- Kurose N., Masuda R., and Tatara M. 2005. Fecal ADN Analysis for identifying Species and Sex of Sympatric Carnivores: A Noninvasive Method for Conservation on the Tsushima Islands, Japan. *Journal of heredity*: 96 (6) 668-697.
- Long R. A., Donovan T. M., Mackay P., Zielinski W. J. and Buzas J. S. 2007. Comparing Scat Detection Dogs, Camera, and Hair Snares for Surveiving Carnivores. *The Journal of Wildlife Management*, Vol. 71, No. 6, pp. 2018-2025
- Loss Chaves Simone, Dias Isabel and Pomilla Cristina. 2010. Extraction of genomic ADN from carnivore fecal samples using QIAamp ADN Stool Mini Kit. American Museum of Natural History. *Resources available at SICG*.
- Ludlow, M. E. and Sunquist M. E. 1987. Ecology and behavior of ocelots in Venezuela. *National Geographic Research* 3: 447-461
- Miotto R. A., Ciocheti, G., Rodrigues F. P. and Galetti Jr. P. M. 2007. Identification of pumas (*Puma concolor* (Linnaeus, 1771)) through faeces: a comparison between morphological and molecular methods. *Braz. Journal. Biol.*, 67: 963-965.
- Mondol S., Karanth K. U., Kumar N. S., Gopaldaswamy A. M., Andheria A. and Ramakrishnan U. 2009. Evaluation of non-invasive genetic sampling methods for estimating tiger population size. *Biological Conservation* 142, pp. 2350-2360.
- Moreno R. and Giacalone J. 2006. Ecological data obtained from latrine use by ocelots (*Leopardus pardalis*) on Barro Colorado Island, Panama. *Tecnociencia*, 8(1) pp. 10
- Mills L.S., Pilgrim K.L., Schwartz M.K., and McKelvey K. 2000. Technical note: Identifying lynx and other North American felids based on mtADN analysis. *Consevation Genetics* 1: 285-288.
- Morin P. A., Chambers K. E., Boesch C. and Vigilant L. 2001. Quantitative polymerase chain reaction analysis of ADN from noninvasive samples for accurate microsatellite genotyping of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). *Molecular Ecology*. 10, pp. 1835-1844.
- Mukherjee S., Ashalakshmi C. N., Home C. and Ramakrishnan U. 2010. An evaluation of the PCR-RFLP Technique to aid molecular-based monitoring of felids in india. *BMC Research Notes* 3 (159): 1-8.
- Paxinos E., McIntosh C., Ralls K., and Fleischer R. 1997. A noninvasive method for distinguishing among canid species: amplification and enzyme restriction of ADN from dung. *Molecular Ecology*, 6, pp. 483-486.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez, L.C. Bender and D. Daniel. 2003. Food habits of pumas in northwestern Sonora, Mexico. *Wild Society Bulletin*, 31, 528-535.

- Rueda P., Mendoza G. D., Martínez D and Rosas-Rosas O. C. 2013. Determination of the jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) diet in a tropical forest in San Luis Potosí, Mexico. *Journal of Applied Animal Research*. DOI:10.1080/09712119.2013.787362
- Ruell E. W. and Crooks K. R. 2007 Evaluation of Noninvasive Genetic Sampling Methods for Felid and Canid Populations. *The Journal of Wildlife Management*, Vol. 71, No. 5, pp 1690-1694.
- Sunquist M. and Sunquist F. 2002. Wild Cats of the World. University of Chicago Press. 452 pp.
- Wilson M.R., Polanskey D., Butler J., DiZinno JA, (1995). Extraction, PCR amplification and sequencing of mitochondrial ADN from human hair shafts. *Biotechniques* 18 662-669 pp.
- Zuercher G. L., Gipson P.S., and Stewart G. C. 2003. Identification of Carnivore Feces by Local Peoples and Molecular Analyses. *Wildlife Society Bulletin*. Vol. 31, No. 4, pp. 961-970.

7 ANÁLISIS DE LA DIETA DE MESOCARNÍVOROS EN LA RESERVA DE LA BIOSFERA “SIERRA DEL ABRA TANCHIPA”, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO.

7.1 RESUMEN.

Los estudios realizados en México sobre pequeños carnívoros son pocos, especialmente sobre felinos, y en la Reserva de la Biósfera “Sierra del Abra Tanchipa” inexistentes. Los hábitos alimenticios de canidos como la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) son omnívoros generalistas, y están marcados por cambios estacionales de acuerdo a la disponibilidad de frutos o de presas, en cambio los felinos como, jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), tigrillo (*Leopardus wiedii*) y ocelote (*Leopardus Pardalis*), presentan hábitos más especializados donde las principales presas son roedores y lagomorfos. En el presente estudio se determinó cuáles son las principales presas para estas especies, tomando en cuenta la frecuencia de aparición en las heces y el aporte en biomasa de cada presa, evaluado en base a un factor de corrección incluyendo los pesos promedio de las presas. Se encontró que la presa más común para el ocelote fue el conejo (*Sylvilagus floridanus*) aportando también mayor biomasa, seguida de *Liomys irroratus*, quien aportó menos biomasa a la dieta en comparación con el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) el cual tuvo una menor frecuencia de ocurrencia en las muestras; el tigrillo y el jaguarundi las presas más encontradas fueron mamíferos pequeños como roedores, el conejo fue la especie con mayor frecuencia y que aportó mayor biomasa a la dieta de la zorra gris, las semillas y restos vegetales fueron secundarios en su dieta. El índice de amplitud del nicho de Levins para el ocelote demostró que este es una especie generalista, siendo mayor para el tigrillo y el jaguarundi convirtiéndolos en especies estrictas, la zorra gris presento valores grandes sin embargo es importante considerar como afecta el tamaño de muestra a los resultados El índice de solapamiento del nicho trófico de Pianka indica que el mayor solapamiento entre estas especies ocurrió entre el ocelote - zorra gris, por la preferencia hacia el conejo, y valores intermedios entre tigrillo- ocelote y jaguarundi- ocelote, pero nulos entre puma - tigrillo, puma- jaguarundi.

7.2 INTRODUCCIÓN

Los procesos metabólicos de los animales, como el crecimiento y el constante mantenimiento del organismo, dependen de la energía que se obtiene a través de la alimentación, la cual afecta el éxito reproductivo y la supervivencia de todas las especies silvestres (Fuller and Sievert, 2001). Asimismo, la calidad y cantidad del alimento determina la adecuación de los depredadores (Aranda *et al*, 2002), contribuye con la evolución y aprendizaje para seleccionar el tipo de presa, el lugar, momento y manera de obtenerla y consumirla (Morrison *et al*, 1992).

Los estudios sobre hábitos alimenticios han permitido conocer la ecología de las especies e implementar planes y programas de manejo y conservación de diversas especies silvestres (Korschgen, 1987; Weber and Rabinowitz, 1996; Ojasti, 2000). Con ello, se ha generado información básica para evaluar el manejo de las áreas naturales protegidas y su rol en la conservación de los recursos naturales (Carrillo *et al*, 2000).

Dentro del Orden Carnívora, los hábitos alimenticios varían desde aquellas especies insectívoras, frugívoras, omnívoras o carnívoras estrictas, tal es el caso de los carnívoros de las familias Felidae y Canidae. Los félicos son estrictos consumidores de carne, éste es un recurso limitado en la naturaleza y para conseguirlo se requiere un fuerte gasto energético (Gittleman and Harvey, 1982). Sin embargo, éstos son los más especializados para la caza y todas sus características morfológicas y conductuales, son usadas para detectar y capturar a sus presas (Aranda *et al*, 2002). Por el contrario, los canidos son depredadores omnívoros oportunistas y dispersores de semillas (Ortega, 1987; Motta-Junior y Martins, 2002), dado que existen especies de carnívoros simpátricas es necesario considerar el solapamiento del nicho entre especies y su amplitud para cada especie, el nicho de una especie puede estar definido abstractamente como la medida de la adecuación en un espacio o ambiente multidimensional (Levins, 1968) concretamente es la medida con que se usan los recursos (Pianka 1983, Giller 1984).

En la RBSAT están reportadas dos especies de canidos, el coyote (*Canis latrans*) y la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y cinco especies de felinos, jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), puma (*Puma concolor*), tigrillo (*Leopardus wiedii*), ocelote (*Leopardus Pardalis*), y jaguar (*Panthera onca*); estos últimos tres considerados en peligro de extinción y a el jaguarundi como amenazada, por la NOM-059-SEMARNAT-2010 e internacionalmente están incluidas en la Lista Roja de la IUCN (*International Union for Conservation of Nature*), por lo tanto es importante conocer aspectos de su ecología como densidad poblacional, área de actividad y sobre todo la interacción que estos depredadores tienen con otras especies, como el análisis de sus hábitos alimenticios; por lo tanto el objetivo de este trabajo es identificar aquellas especies que se encuentran con mayor frecuencia y que representan un mayor aporte en cuanto a la biomasa consumida en la dieta de los mesocarnívoros que se distribuyen en la RBSAT, así como identificar la amplitud del nicho y su posible solapamiento debido a que comparten un área en común por ser especies simpátricas.

7.3 MATERIALES Y MÉTODOS

7.3.1 Recolección de muestras.

Las heces se recolectaron cada 15 días durante febrero-mayo 2011, noviembre 2011 y febrero 2012 en la Reserva de la Biósfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México. Para ello, se realizaron recorridos a pie hacia el interior de la reserva y a lo largo de los caminos de la sección oeste de la sierra (Figura 15). Cabe mencionar que durante los muestreos se encontró una letrina, aparentemente de pequeños carnívoros; todas las muestras de heces encontradas en ella se recolectaron en bolsas de papel se etiquetaron con los datos del lugar, fecha, hora y tipo de hábitat, se deshidrataron y almacenaron hasta su análisis. Los muestreos se llevaron a cabo en la temporada seca para evitar la pérdida de muestras causada por las lluvias.

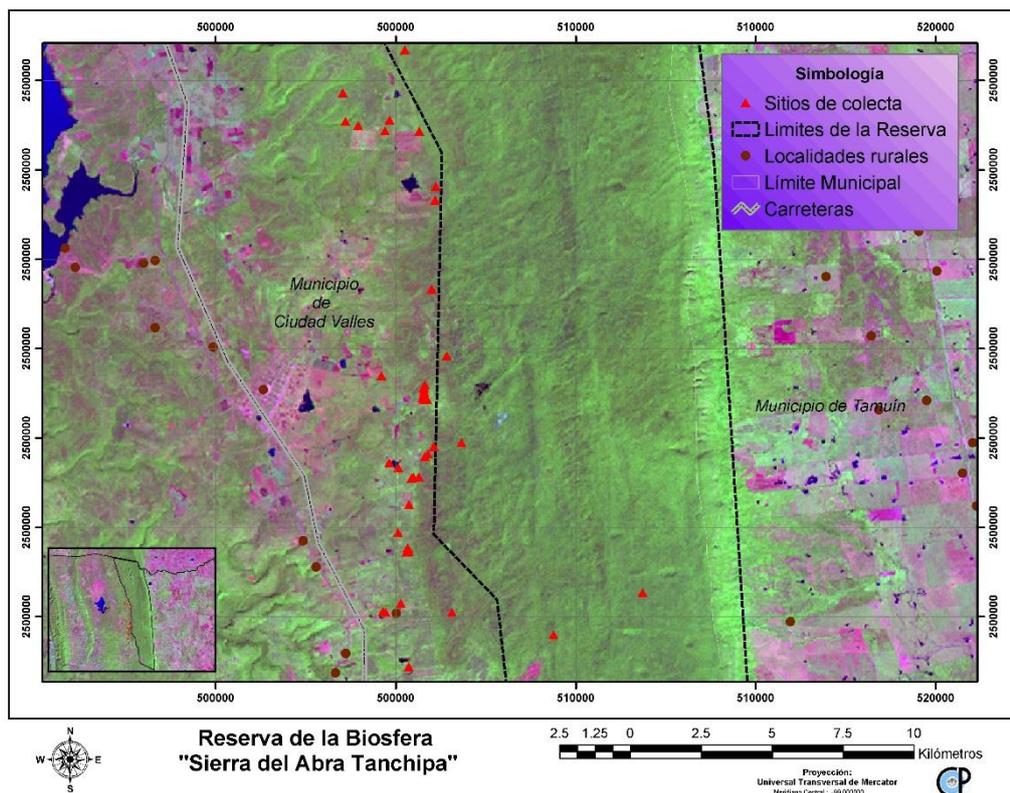


Figura 14. Sitios de recolección en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí México.

7.3.2 Identificación de las especies presa

Para su análisis, las heces recolectadas, se colocaron durante 48 horas en bolsas de plástico con una solución jabonosa para suavizarlas; posteriormente se colocaron en 2 tamices de diámetro decreciente (4.2 y 3.7 mm) y lavadas directamente con agua corriente hasta que quedaron solamente restos de pelo, huesos, escamas y restos vegetales. Estos restos se secaron a temperatura ambiente, de los cuales se separaron y seleccionaron pelos de guardia, y se colocaron en un tubo eppendorf con ayuda de unas pinzas y se aclararon con xilol por 24 horas de acuerdo con la técnica propuesta por Arita (1985). La identificación de los pelos de guardia se realizó mediante la comparación de los patrones de medula con pelos de las presas potenciales (material de referencia) reportadas para la zona de estudio por Dalquest (1953) y Ceballos (2005). Este material se obtuvo de la colección mastozoológica de la facultad de ciencias UNAM y de laminillas de la colección de mastozoológica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Apéndice).

Los restos de los mamíferos se identificaron hasta nivel de especie con la ayuda de la comparación del patrón medular y de acuerdo a sus distribuciones reportadas, en ocasiones fueron encontrados huesos como mandíbulas, dientes y unas garras de felino pequeño, que fueron identificadas como de ocelote juvenil; los restos identificados como de aves, en su mayoría plumas y una extremidad, no fueron suficientes para determinar géneros ni especies, en las muestras fecales fueron observadas escamas, las cuales no fueron identificadas, pero se incluyeron como una categoría de especies presa, en su mayoría las excretas presentaron insectos y materia vegetal como semillas y pastos.

7.3.3 Análisis de datos.

Se estimó el número mínimo de individuos consumidos (NMI); para ello, se consideró como un individuo la presencia de un artículo como escamas, plumas y pelo. En el caso de los dientes, estos se contaron para estimar el mínimo número de individuos por muestra (Silva-Pereira *et al*, 2010).

Se calculó el porcentaje de ocurrencia (PO) de cada especie presa dividiendo el número de individuos de una especie (encontrados en la muestra) entre la sumatoria total del número mínimo de individuos (NMI) y multiplicado por 100 (para representarlo en

porcentaje). De esta forma, se obtuvo la proporción del consumo por especie con respecto a las demás. También se calculó la frecuencia de ocurrencia (FO) de cada especie presa dividiendo el número de individuos de una especie (en la muestra) entre el número total de muestras multiplicándolo por 100 para representarlo en porcentaje; con esta fórmula, se obtuvo la frecuencia de aparición de cada especie presa en relación con el número total de excretas (Villa-Meza *et al*, 2002; Silva-Pereira *et al*, 2010; Bianchi *et al*, 2011).

Para evitar la sobrestimación de pequeñas presas debido a que se consumen por completo incluyendo material no digerible (pelo, plumas, escamas, dientes y huesos), y de esta forma suelen representarse en mayor número en las heces o subestimación de grandes presas de las cuales en su mayoría se consume materia completamente digerible, por lo cual no pueden encontrarse rastro de estas con tanta frecuencia; se usó un factor de corrección en las muestras identificadas como de ocelote y otro en las muestras de puma, esto para calcular la biomasa consumida mediante una ecuación de regresión lineal, basada en el supuesto de la digestibilidad de los tipos de presa en relación al peso de la presa, esta ecuación de regresión lineal, fue propuesta por Baker *et al.* (1993) para el gato montés (*Lynx rufus*) y utilizada por Villa-Meza *et al* (2002), debido a que la talla es semejante con la de los ocelotes; la ecuación de regresión lineal usada para el puma fue propuesta por Ackerman *et al.* (1984) y usada por Rueda *et al.* (2013).

El factor de corrección utilizado para el ocelote está definido por la ecuación lineal $y = 16.63 + 4.09x$ donde y es la masa fresca consumida de la presa en gramos (g) por materia seca producida (heces) y x es el peso vivo en kilogramos de la especie presa. Para el puma el factor de corrección se definió por la ecuación lineal $y = 1.98 + 0.035x$ donde y es la masa fresca consumida de la presa en kilogramos (kg) por materia seca producida (heces) y x es el peso vivo en kilogramos de la especie presa. La biomasa relativa se calculó multiplicando la frecuencia de ocurrencia por el factor de corrección dividiéndolo entre la suma de las multiplicaciones de la frecuencia de ocurrencia por el factor de corrección. El número relativo de presas consumidas, se calculó dividiendo la biomasa relativa entre el peso en kg de cada presa, entre la sumatoria de las divisiones de la biomasa consumida y la biomasa relativa; estos cálculos se realizaron de acuerdo a lo reportado por Ackerman *et al.* (1984), Villa-Meza *et al.* (2002) y Rueda *et al.* (2013).

Los pesos de las especies presa fueron tomados con respecto a los pesos máximos reportados en la literatura, de esta forma se calculó la digestibilidad y representación de las presas en la dieta de acuerdo con la biomasa aportada en la dieta del ocelote y el puma.

El solapamiento de la dieta entre las 5 especies de mesocarnívoros, se calculó con el índice de Pianka (1973), el cual se define por la siguiente ecuación:

$$O_{12} = O_{21} = \frac{\sum_{i=1}^n p_{2i} p_{1i}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (p_{2i}^2)(p_{1i}^2)}}$$

Donde O_{12} y O_{21} es el índice de solapamiento comparando dos especies, p es el número relativo de individuos consumidos definido por el porcentaje de ocurrencia; por la especie 1 y 2. Este índice se determinó utilizando el programa R (The R Project for Statistical Computing) con el paquete “pgirmess”.

De la misma forma, se calculó el índice estandarizado de Levins (1968) de la amplitud de nicho mediante las siguientes ecuaciones.

$$B = \frac{1}{\sum p_i^2} \quad B_A = \frac{B-1}{N-1}$$

Donde p es el número relativo de individuos consumidos por la especie definido como el porcentaje de ocurrencia.

El concepto de nicho ha sido incorporado en diversos estudios de composición de la dieta. Hutchinson (1957) lo definió como el rango total de las variables ambientales a las cuales una especie se ha adaptado, en las que vive y se substituye a sí misma. De esta manera, al nicho se le atribuyó un enfoque cuantitativo que se basa en dos descriptores: 1) amplitud y 2) sobreposición (Smith, 1982). La amplitud es la suma de la variedad de los recursos utilizados por una especie, y la sobre posición depende de las demandas simultáneas sobre algunos recursos particulares por parte de dos o más especies.

7.4 RESULTADOS

Se recolectaron 125 heces de carnívoros (60 y 65 heces en caminos y en una letrina, respectivamente), de las cuales se identificaron mediante análisis moleculares 108 (86%) muestras, 82 correspondieron a ocelote (*Leopardus pardalis*), 11 fueron de zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), 6 de puma (*Puma concolor*), 6 de jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y 3 de tigrillo (*Leopardus wiedii*).

Los carnívoros en la Reserva de la Biósfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México consumieron especies de presas clasificadas de acuerdo a las categorías descritas en la Tabla 2.

La dieta del ocelote consistió principalmente de mamíferos ya que en todas las heces se detectaron los lagomorfos, siendo de menor importancia las aves y reptiles. En todas las muestras de excretas del tigrillo se encontraron restos de mamíferos principalmente de roedores, en un 66% de las heces se encontraron restos de aves. De igual manera, en todas las heces del puma se encontraron restos de mamíferos, y en algunas de ellas se observaron restos de hasta 2 mamíferos. El jaguarundi principalmente se alimentó de pequeños roedores y de aves; la zorra gris presentó una dieta más diversa; sin embargo, los mamíferos fueron también las presas más consumidas, en segundo lugar las plantas (principalmente frutos) y los insectos (Figura 15).

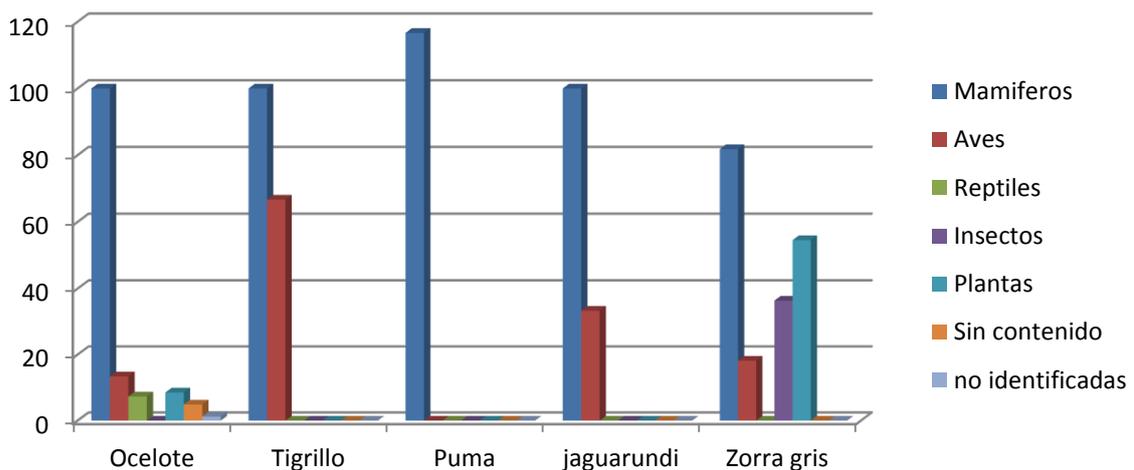


Figura 15. Frecuencia de ocurrencia de presas para cinco depredadores en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

Para el ocelote la presa más común fue el conejo (*Sylvilagus floridanus*) ya que este se encontró en 38 muestras y presentó un porcentaje de ocurrencia de 34.2% (PO), seguida por *Liomys irroratus* en 15 muestras, con PO de 13.51%. En el caso del tigrillo, *Sciurus aureogaster* y aves no identificadas, solamente se encontraron 2 indicios en las muestras, los cuales fueron considerados como el número mínimo de individuos consumidos, presentando una misma frecuencia de ocurrencia y porcentaje de ocurrencia de 66.67, en las muestras encontradas de puma se encontraron tres muestras que contenían restos de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y dos más con restos de coatí (*Nasua narica*), cada uno de ellos presento una frecuencia de ocurrencia de 50 % y 33.33 % y un porcentaje de ocurrencia de 42.86 y de 28.57 respectivamente; en el caso de las heces recolectadas de jaguarundi se describieron dos con restos de la especie *Sigmodon hispidus* y dos con restos de aves no identificadas, representando de la misma forma 33.33 % de la frecuencia de ocurrencia y un 25% en el porcentaje de ocurrencia para ambas especies consumidas; de las muestras identificadas como pertenecientes a zorra gris la especie más representada en 6 muestras contenían restos de conejo y en cuatro fueron encontrados restos de insectos principalmente de escarabajos no identificados, cada uno de ellos presento una frecuencia de ocurrencia del 54.55% y del 36.36 % y un porcentaje de ocurrencia del 28.57 y 19.05% respectivamente para cada especies consumida (Tabla 2).

Tabla 2. Especies de presas encontradas heces de carnívoros de la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa, San Luis Potosí, México, recolectadas durante 2011-2012.

<i>Especies</i>	<i>Leopardus pardalis</i> (N ^a =82)			<i>Leopardus wiedii</i> (N=3)			<i>Puma concolor</i> (N=6)			<i>Puma yagouaroundi</i> (N=6)			<i>Urocyon cinereoargenteus</i> (N=11)		
	<i>NMI</i> ^b	<i>FO (%)</i> ^c	<i>PO (%)</i> ^d	<i>NMI</i>	<i>FO (%)</i>	<i>PO (%)</i>	<i>NMI</i>	<i>FO (%)</i>	<i>PO (%)</i>	<i>NMI</i>	<i>FO (%)</i>	<i>PO (%)</i>	<i>NMI</i>	<i>FO (%)</i>	<i>PO (%)</i>
Mamíferos															
<i>Rodentia</i>															
<i>Baiomys taylori</i>	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	1	16.67	12.50	-	-	-
<i>Liomys irroratus</i>	15	18.29	13.51	1	33.33	20.00	-	-	-	1	16.67	12.50	3	27.27	14.29
<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	3	3.66	2.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peromyscus levipes</i>	2	2.44	1.80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peromyscus leucopus</i>	3	3.66	2.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peromyscus maniculatus</i>	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	3	3.66	2.70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	2	2.44	1.80	-	-	-	-	-	-	1	16.67	12.50	-	-	-
<i>Reithrodontomys mexicanus</i>	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	1	16.67	12.50	-	-	-
<i>Sciurus deppei</i>	2	2.44	1.80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sciurus aureogaster</i>	1	1.22	0.90	2	66.67	40.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sigmodon hispidus</i>	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	2	33.33	25.00	-	-	-
<i>Lagomorpha</i>															
<i>Sylvilagus floridanus</i>	38	46.34	34.23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	54.55	28.57
<i>Artiodactyla</i>															
<i>Odocoileus virginianus</i>	4	4.88	3.60	-	-	-	3	50.00	42.86	-	-	-	-	-	-
<i>Carnivora</i>															
<i>Leopardus pardalis</i>	-	-	-	-	-	-	1	16.67	14.29	-	-	-	-	-	-
<i>Nasua narica</i>	3	3.66	2.70	-	-	-	2	33.33	28.57	-	-	-	-	-	-
<i>Procyon lotor</i>	2	2.44	1.80	-	-	-	1	16.67	14.29	-	-	-	-	-	-
Aves															
<i>Aves no identificadas</i>	11	13.41	9.91	2	66.67	40.00	-	-	-	2	33.33	25.00	2	18.18	9.52
Reptiles															
<i>Reptiles no identificados</i>	6	7.32	5.41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Insectos															
<i>Insectos no identificados</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	36.36	19.05
Plantas															
<i>Semillas</i>	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	27.27	14.29
Restos vegetales	6	7.32	5.41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	27.27	14.29
Sin contenido															
Materia digerida	4	4.88	3.60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No identificados	1	1.22	0.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	111	135.37	100.00	5	166.67	100.00	7	116.67	100.00	8	133.33	100.00	21	190.91	100.00

^a N= número total de muestras; ^b NMI: número mínimo de individuos consumidos; ^c Frecuencia de ocurrencia FO=(NMI/N)x100; ^d Porcentaje de ocurrencia PO=(MNI/Σ MNI)x100

En base a consultas bibliográficas fueron obtenidos los datos de la masa (kg) de las especies presa; estos datos fueron usados para calcular la biomasa consumida y el factor de corrección propuesto por Baker *et al.* (1993) para las presas del gato montés (*Lynx rufus*) y utilizada por Villa-Meza *et al.* (2002) para las presas del ocelote, este factor de corrección se usó en el cálculo de la biomasa relativa consumida y el número relativo de individuos consumidos por el ocelote de acuerdo a lo reportado por Ackerman *et al.* (1984) y Villa-Meza *et al.* (2002) (Tabla 3).

Tabla 3. Biomasa y números relativos de individuos consumidos por el ocelote en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

<i>Leopardus pardalis</i> (N=82)							
<i>Especies</i>	(A) <i>Masa (kg)</i>	(B) <i>NMI^c</i>	(C) <i>FO (%)</i>	(D) <i>Biomasa consumida (kg)</i>	(E) <i>Factor de corrección (g)</i>	(F) <i>Biomasa relativa consumida (%)</i>	(G) <i>Número relativo de individuos consumidos (%)</i>
Mamíferos							
<i>Rodentia</i>							
<i>Baiomys taylori</i>	0.0095	1	1.22	0.0095	16.67	0.86	7.69
<i>Liomys irroratus</i>	0.05	15	18.29	0.75	16.83	13.00	22.14
<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	0.015	3	3.66	0.045	16.69	2.58	14.63
<i>Peromyscus levipes</i>	0.023	2	2.44	0.046	16.72	1.72	6.37
<i>Peromyscus leucopus</i>	0.024	3	3.66	0.072	16.73	2.58	9.16
<i>Peromyscus maniculatus</i>	0.028	1	1.22	0.028	16.74	0.86	2.62
<i>Reithrodontomys fulvescens</i>	0.012	3	3.66	0.036	16.68	2.58	18.28
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	0.013	2	2.44	0.026	16.68	1.72	11.25
<i>Reithrodontomys mexicanus</i>	0.019	1	1.22	0.019	16.71	0.86	3.85
<i>Sciurus deppei</i>	0.69	2	2.44	1.38	19.45	2.00	0.25
<i>Sciurus aureogaster</i>	0.294	1	1.22	0.294	17.83	0.92	0.27
<i>Sigmodon hispidus</i>	0.225	1	1.22	0.225	17.55	0.90	0.34
<i>Lagomorpha</i>							
<i>Sylvilagus floridanus</i>	1.244	38	46.34	47.272	21.72	42.49	2.91
<i>Artiodactyla</i>							
<i>Odocoileus virginianus</i>	15	4	4.88	60	77.98	16.06	0.09
<i>Carnivora</i>							
<i>Nasua narica</i>	5.9	3	3.66	17.7	40.76	6.30	0.09
<i>Procyon lotor</i>	6.76	2	2.44	13.52	44.28	4.56	0.06
Aves							
<i>Aves no identificadas</i>		11	13.41				
Reptiles							
<i>Reptiles no identificadas</i>		6	7.32				
Insectos							
<i>Insectos no identificados</i>		-	-				
Plantas							
<i>Semillas</i>		1	1.22				
Restos vegetales		6	7.32				
Sin contenido							
Materia digerida		4	4.88				
No identificados							
		1	1.22				
TOTAL		111	135.37			100	100

$$E = 16.63 + 4.09A;$$

$$F = (C \times E) / \sum (C \times E);$$

$$G = (F/A) / \sum (F/A).$$

La especie que proporcionó más biomasa para el ocelote fue el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) seguida por el conejo (*Sylvilagus floridanus*), coatí y el mapache ; sin embargo, el peso de la mayoría de las presas del ocelote fue menor a 1.5 kg (roedores lagomorfos y posiblemente las aves no identificadas), en menor medida especies mayores a 2 kg (venado cola blanca y dos especies de prociénidos). El factor de corrección nos indica la biomasa en gramos consumida de cada presa por excreta producida, en el caso del ocelote a la presa que presenta mayor biomasa consumida por excreta producida definida por el factor de corrección fue el venado cola blanca. Cabe señalar que la masa ocupada para este resultado del venado cola blanca fue de 15 kg, ya que se estima que el ocelote consume solo individuos juveniles. Considerando la frecuencia de ocurrencia y el factor de corrección se pudo determinar que el conejo (*Sylvilagus floridanus*) fue la especie que mayor biomasa relativa aportó a la dieta del ocelote, seguida del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) y el roedor *Liomys irroratus*, para aportar esta biomasa fue necesario que el ocelote consumiera 22.1 individuos en proporción al total de individuos consumidos de todas las especies; asimismo, fue necesario que consumiera 2.9 conejos y 0.09 venados cola blanca (Tabla 3).

Para el puma se observó que el venado cola blanca aportó mayor biomasa consumida, ya que fue la especie que se presentó en mayor número dentro de las muestras colectadas, y dada su masa; el factor de corrección que se usa para el venado cola blanca, tomando en cuenta la masa de un adulto el cual puede ser cazado por un puma, es de 3.5 kg de masa consumida por excreta generada, entre las especies presa se encontraron los restos de un ocelote, pelos identificados y garras presuntamente de esta especie, el factor de corrección expresa que es necesario consumir por lo menos dos kilos de este depredador por parte del puma para generar una excreta, lo mismo se observó para las dos especies de prociénidos encontrados en las muestras. La biomasa relativa consumida fue mayor para el venado cola blanca que para el coatí, indicando que la presa que aporta mayor biomasa a el puma es el venado cola blanca y la que aporta menor biomasa es el coatí, sin embargo es importante tomar en cuenta que el número de muestras es muy pequeño y puede estarse cometiendo un error de sobreestimación (Tabla 4).

Tabla 4. Biomasa y número relativo de individuos consumidos por el puma en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México.

<i>Puma concolor</i> (N=6)							
<u>Especies</u>	<u>Masa (kg)^b</u>	<u>NMI^c</u>	<u>FO (%)^d</u>	<u>Biomasa consumida (kg)</u>	<u>Factor de corrección (kg)</u>	<u>Biomasa relativa consumida (%)</u>	<u>Numero relativo de individuos consumidos (%)</u>
Mamíferos							
<i>Artiodactyla</i>							
<i>Odocoileus virginianus</i>	45	3	50.00	135	3.555	54.36	15.58
<i>Carnivora</i>							
<i>Leopardus pardalis</i>	11	1	16.67	11	2.365	12.05	14.13
<i>Nasua narica</i>	5.9	2	33.33	11.8	2.1865	22.29	48.73
<i>Procyon lotor</i>	6.76	1	16.67	6.76	2.2166	11.30	21.56
TOTAL		7	116.67			100.00	100.00

$$E = 16.63 + 4.09A;$$

$$F = (C \times E) / \sum (C \times E);$$

$$G = (F/A) / \sum (F/A).$$

Se calculó la biomasa consumida de los mamíferos encontrados por muestras de tigrillo, jaguarundi y zorra gris, en el caso del primero dado que se encontraron dos muestras que contenían pelos identificados por la medula, como de ardilla (*Sciurus aureogaster*) la biomasa consumida de esta especie por el tigrillo fue de 0.588 kg, en contraste con lo encontrado para el jaguarundi, donde la especie más consumida fue *Sigmodon hispidus*, ya que encontraron restos de esta especie en dos muestras y la biomasa consumida fue de 0.45 kg, mucho mayor que el resto de los mamíferos encontrados en las heces; una diferencia más significativa fue observada por las heces pertenecientes a la zorra gris, donde el conejo (*Sylvilagus floridanus*) se encontró en 6 de 11 muestras y se observó una biomasa consumida de 7.46 kg, sin embargo los insectos y restos vegetales, también fueron observados en 10 de las 11 muestras obtenidas para esta especie, por lo que no se tiene que descartar la importancia del tipo de dieta omnívoro de la zorra gris; por desgracia para estas tres especies no se ha desarrollado una fórmula que nos permita calcular el factor de corrección, para el cálculo de la biomasa de la biomasa relativa consumida o en su caso para el cálculo del número relativo de individuos consumidos (Tabla 5).

El índice de amplitud del nicho de Levins está basado en el uso de los recursos alimenticios y la competencia que de esto deriva, en pocas palabras mide la variedad de recursos alimenticios usados por la especie, se hace mínimo (0) cuando las frecuencias de utilización son las mismas para cada uno de los recursos consumidos y máximo (1) cuando el recurso consumido es solo uno, ósea cuando la especie es especialista estricto (Krebs,

1989). El índice de amplitud del nicho de Levins observado para las 5 especies de carnívoros fue mayor para el ocelote y menor para el tigrillo, y es similar entre el jaguarundi y la zorra gris. El índice simétrico del solapamiento del nicho trófico de Pianka indica que el número máximo (1) es un solapamiento total entre dos especies y el número mínimo (0) es un solapamiento nulo, el mayor solapamiento entre estas especies ocurrió entre el ocelote y la zorra gris y valores intermedios entre el tigrillo y el ocelote, el jaguarundi y el ocelote y nulos entre el puma con el tigrillo y puma con el jaguarundi (Tabla 6).

Tabla 5. Biomasa consumida por tres especies de carnívoros en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México

<i>Especies</i>	<i>Masa(kg)</i>	<i>Leopardus wiedii</i> (N=3)		<i>Puma yagouarundi</i> (N=6)		<i>Urocyon cinereoargenteus</i> (N =11)	
		<i>NMI</i>	<i>Biomasa consumida(kg)</i>	<i>NMI</i>	<i>Biomasa consumida(kg)</i>	<i>NMI</i>	<i>Biomasa consumida(kg)</i>
Mamíferos							
<i>Rodentia</i>							
<i>Baiomys taylori</i>	0.0095	-	-	1	0.0095	-	-
<i>Liomys irroratus</i>	0.05	1	0.05	1	0.05	3	0.15
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	0.013	-	-	1	0.013	-	-
<i>Reithrodontomys mexicanus</i>	0.019	-	-	1	0.019	-	-
<i>Sciurus aureogaster</i>	0.294	2	0.588	-	-	-	-
<i>Sigmodon hispidus</i>	0.225	-	-	2	0.45	-	-
<i>Lagomorpha</i>							
<i>Sylvilagus floridanus</i>	1.244	-	-	-	-	6	7.46
Aves							
<i>Aves no identificadas</i>	-	2	-	2	-	2	-
Insectos							
<i>Insectos no identificados</i>	-	-	-	-	-	4	-
Plantas							
<i>Semillas</i>	-	-	-	-	-	3	-
Restos vegetales	-	-	-	-	-	3	-
TOTAL		5		8		21	

NMI: número mínimo de individuos consumidos.

Tabla 6. Índice estandarizado de la amplitud del nicho de Levins y solapamiento del nicho de Pianka para 5 especies de carnívoros.

	B_{st}	Índice de solapamiento de Pianka				
		Ocelote	Tigrillo	Puma	Jaguarundi	Zorra gris
Ocelote	0.252797893	1.000	0.294	0.117	0.281	0.785
Tigrillo	0.888888889	0.294	1.000	0.000	0.481	0.256
Puma	0.755555556	0.117	0.000	1.000	0.000	0.000
Jaguarundi	0.866666667	0.281	0.481	0.000	1.000	0.222
Zorra gris	0.862650602	0.785	0.256	0.000	0.222	1.000

7.5 DISCUSIÓN

En este trabajo se recolectaron sobre transectos y una letrina 125 heces de carnívoros, basado en la apariencia y morfología básica de las heces de carnívoros reportadas por Aranda (2012), la colecta se enfocó hacia heces que fueran principalmente de ocelote, todas las heces fueron identificadas por métodos moleculares para aumentar la precisión del estudio, y se logró determinar 82 (76.3%) correspondieron a ocelote (*Leopardus pardalis*), 11 (10%) a zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*), 6 (5.5) a puma (*Puma concolor*), 6 (5.5) a jaguarundi (*Puma yagouaroundi*) y 3 (2.7%) a tigrillo (*Leopardus wiedii*); de esta forma se evitó la sobre estimación de la descripción de la dieta para el ocelote, del cual se observó que en las 82 heces de esta especie se encontraron 111 restos de 21 categorías de presas; siendo los más abundantes mamíferos pequeños menores a 1.5 kg aproximadamente el 65.77%, y en segundo término mamíferos medianos de 2-10 kg fue del 8.11%; restos de aves (9.9%) y por ultimo restos de reptiles (5.41%); esto concordó con lo reportado en México por Villa Meza *et al* (2002), en Brasil por Abreu *et al* (2007), en Costa Rica por Chinchilla (1997), en Panamá por Moreno *et al* (2006) y en Belize Konecny (1989), quienes describieron que la dieta del ocelote está compuesta de hasta de un 59% de mamíferos con una masa de entre 1 y 10 kg.

El mamífero encontrado con mayor frecuencia en las heces y que aportó mayor biomasa consumida y biomasa relativa, 47.2 kg y 42.9% respectivamente, fue el conejo *Sylvilagus floridanus*, esto lo convierte en la especie más importante para la dieta del ocelote en la Reserva de Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, estos resultados pueden ser un reflejo de la densidad poblacional del conejo dentro de la reserva, Martínez (2013) reporta que el conejo tiene valores altos en cuanto al índice de abundancia relativa (2.06) en la Sierra del Abra Tanchipa, y Dalquest (1953) menciona que el conejo *S. floridanus* es abundante en las zonas con clima tropical en San Luis Potosí; esto difiere a lo reportado por Villa-Mesa *et al* (2002) en Chamela Jalisco, en donde la iguana negra (*Ctenosauria pectinata*) fue la especie que aportó mayor biomasa a la dieta del ocelote, también atribuido a una posible densidad poblacional alta, esta comparación en cuanto a la aportación de biomasa de dos diferentes presas está relacionado a la forma en que se considera al ocelote una especie oportunista en cuanto a la disponibilidad de las presas, las cuales en su mayoría como el conejo, son presas de hábitos nocturnos, ya que la mayor actividad del ocelote es nocturna (Chinchilla 1997, Emmons 1988 y Konecny (1989).

La segunda especie más frecuente en las heces de ocelote fue *Liomys irroratus*, pero aportó menos biomasa relativa a la dieta, en comparación con el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) el cual tuvo una menor frecuencia de ocurrencia en las muestras (4.88), pero por el tamaño de esta especie, representa una importante fuente de biomasa si es que el depredador puede capturarla, por esta razón es considerada una maza para esta especie de 15 kg, que es el peso de un individuo juvenil, lo cual ha sido reportado de igual forma por Villa-Meza *et al* (2002) y Konecny (1989).

Las aves fue el segundo grupo de presas en cuanto a la importancia en consumo del ocelote, aunque estas no se identificaron, la observación de los restos en las dietas, principalmente a que el tamaño de los cañones de plumas son grandes hace pensar que el ocelote depreda aves de tamaño grande que generalmente se encuentran en el suelo, esto aunado a los hábitos exclusivamente terrestres del ocelote (Konecny, 1989; Sunquist y Sunquist, 1989), hace creer que se alimenta de aves como hocofaisan (*Crax rubra*), chachalaca (*Ortalis vetula*), reportadas por Martínez (2013) con índices de abundancia relativa de 1.11 y 0.43 respectivamente, en la Sierra del Abra Tanchipa; dentro de la dieta descrita para ocelote fueron encontradas 3 muestras que contenían restos de coatí (*Nasua narica*) y 2 muestras con restos de mapache (*Procyon lotor*), el consumo de estos depredadores medianos por el ocelote solamente se encuentra documentado en Panamá por Moreno *et al* (2006), quienes describen el consumo de estas especies de talla mediana (1-10 kg) como frecuentes en la dieta del ocelote.

Los grandes carnívoros como el puma, generalmente su dieta consiste en presas grandes, en norte américa está documentado que entre las presas más consumidas por este depredador destacan los ungulados como el venado bura (*Odocoileus hemionus*) y el venado cola blanca (Iriarte *et al.*, 1990; Ackerman *et al.*, 1984), en México los reportes sobre las presas del puma destacan el venado cola blanca, el pecarí (*Pecari tajacu*) y el borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) (López-Gonzales and González-Romero *et al*, 1998; Nuñez *et al*, 2000; Rosas-Rosas *et al.*, 2003), en el centro de México también fueron reportados datos similares por Torre and Riva (2009), quienes describen que en el estado de Aguascalientes la presa más frecuente en las heces y que aportó mayor biomasa fue el venado cola blanca seguido del pecarí; lo cual concuerda con lo descrito en este estudio donde fueron identificadas 6 muestras de puma, con 7 restos de 4 presas diferentes; en el 50 % de las muestras fue encontrado pelo de venado cola blanca (*O. virginianus*), la cual

fue la presa que mayor biomasa aportó a la dieta de este depredador; sin embargo Rueda *et al* (2013) describe al pecarí como la presa más importante para el puma, en zonas tropicales de San Luis Potosí, esto puede deberse a que en este trabajo el número de muestras es pequeño y no se alcanza el mínimo necesario para describir la dieta del puma; en las muestras también fueron encontrados en dos ocasiones restos de coatí y una sola vez restos de mapache, siendo estos los secundariamente importantes en cuanto a biomasa relativa aportada, en Colombia también fue descrita una especie de prociónido (*Nasuella olivacea*) como la segunda más importante en la dieta del puma (Hernández- Guzmán *et al*, 2011), también fueron encontrados restos no digeridos, principalmente garras y pelo, en una de las muestras, lo cual indicó depredación de otro felino por parte del puma, la identificación de pelos y garras, apuntaron a que se trató de un ocelote, en etapa juvenil, aunque no existen datos anteriores sobre la depredación de ocelotes por parte de pumas, puede ser que este sea un caso aislado, sin embargo, existen antecedentes de depredación de otros carnívoros como coyote, zorra gris, gato montés y puma (Ackerman *et al.*, 1984; Torre and Riva, 2009).

De las tres muestras colectadas de tigrillo se lograron encontrar cinco restos no digeridos de tres categorías, dos especies de roedores y una de aves no identificadas; para las 6 muestras de jaguarundi, fueron encontrados ocho restos no digeridos de seis categorías, cinco de roedores y una de aves no identificadas. Tanto para tigrillo como para jaguarundi las presas mayormente encontradas en las heces de estas dos especies, correspondieron a mamíferos pequeños como roedores ($\leq 1\text{kg}$), los cuales representaron el 60 y 75 % del total de la dieta respectivamente, y las aves representaron el 40 y 25% restante para cada depredador, la ardilla gris (*Sciurus aureogaster*) y las aves fueron las presas con mayor frecuencia en la descripción de la dieta de tigrillo, la ardilla gris es una especie completamente de hábitos arborícolas y por esto es fácilmente depredada por esta especie, por su actividad arborícola el tigrillo se alimenta de especies que se encuentren en su mismo estrato, Konecny (1989) describió la en la dieta del tigrillo a la ardilla *Sciurus aureogaster* en un 22.2 %; en Sudamérica se ha reportado que el tigrillo se alimenta de especies de primates como el mono capuchino llorón (*Cebus olivaceus*), el mono tamarin negro (*Saguinus niger*) (Oliveira, 1998; Oliveira *et al*, 2009), pero también consume mamíferos terrestres, es importante aumentar el número de muestras para describir con mayor claridad la dieta del tigrillo, ya que esta puede ser más variada, sobre todo en lo que corresponde a número y diversidad de mamíferos u otras presas.

La variedad en cuanto a mamíferos consumidos por el jaguarundi, fue mayor en comparación con las presas descritas para tigrillo, siendo un total de cinco especies de roedores, de los cuales no se observó una diferencia significativa en cuanto a la frecuencia de estos, ya que aparecieron rastros de una especie diferente en cada una de las muestras, esto indica la importancia de los mamíferos en la dieta del jaguarundi; las aves, como segunda categoría en cuanto a la importancia en Brasil, la dieta del jaguarundi esta mayormente descrita por Bianchi *et al* (2011) como las aves el grupo de más importancia, y posteriormente los mamíferos, en Jalisco, México Guerrero *et al*, (2002) menciona que el grupo más consumido por el jaguarundi, fueron los mamíferos, seguidos por vegetales, insectos y al fina aves; cabe destacar que para esta especie es conveniente el aumentar el número de muestras con el fin de describir mejor sus hábitos alimenticios en la Sierra del Abra Tanchipa.

La especie con mayor frecuencia y que aportó mayor biomasa a la dieta de la zorra gris, fue sin duda el conejo, las semillas y restos vegetales fueron secundarios en su dieta, es necesario tomar en cuenta que esta especie es considerada como generalista oportunista y que sus hábitos alimenticios están relacionados a las variaciones temporales, esto es que en temporada seca la zorra gris consume principalmente pequeños roedores y mamíferos de talla mediana, seguido de frutos e insectos y en la temporada húmeda los frutos aumentan y por ende se alimenta mayormente de frutos y en menor frecuencia de vertebrados (Graf, 1988; Esparza, 1991; Guerrero *et al* 2002; Aguilar, 2011; Villalobos, 2011, Fedriani *et al*, 2000)

El resultado del número relativo de individuos consumidos calculados para el ocelote y puma, es una estimación inicial para el estudio de sus hábitos alimenticios en San Luis Potosí, en el caso del ocelote se calculó un consumo de 22.1 individuos de *Liomys irroratus*, esto es debido a su pequeño tamaño y mediana representatividad en el número de muestras; para el puma, *Nasua narica* fue la especie con mayor número relativo de individuos consumidos.

El índice de amplitud del nicho de Levins observado para el ocelote fue de 0.25 lo cual lo convierte en una especie generalista y menor para el tigrillo 0.88, lo cual lo convierte en depredador estricto, y es similar entre el jaguarundi y la zorra gris (0.86) sin embargo es necesario considerar el número de muestras, ya que con pocas muestras no se

está reflejando la totalidad de las presas que consume este depredador, estos resultados concuerdan con Silva-Pereira (2010), en donde el ocelote también es una especie generalista y el jaguarundi presenta un patrón intermedio en su nicho alimenticio, también está documentado que la zorra gris es una especie con gran amplitud del nicho, siendo por completo generalista y el jaguarundi tiende a ser especialista trófico, en estas especies de carnívoros generalistas la variabilidad estacional juega un papel importante Guerrero *et al.* (2002), detectaron estas diferencias estacionales comparando la amplitud de los nichos tróficos para 4 especies de carnívoros, entre la estación seca y húmeda, donde registraron a la zorra gris con el nicho más amplio y el más estrecho al mapache, en cambio en la estación húmeda, el coyote tuvo mayor amplitud en comparación con la zorra y el mapache.

El índice simétrico del solapamiento del nicho trófico de Pianka indica que el mayor solapamiento entre estas especies ocurrió entre el ocelote - zorra gris (0.78) debido a la preferencia compartida hacia el conejo, y valores intermedios entre tigrillo- ocelote (0.29) y jaguarundi- ocelote (0.28) pero nulos entre puma - tigrillo, puma- jaguarundi (0), indicando un bajo nivel de solapamiento en cuanto a la preferencia de presas. Para aumentar la validez de estos resultados es necesario considerar el tamaño de muestra, ya que se obtuvieron pocas muestras conociendo pocas presas de algunos depredadores, lo que puede sugerir una subestimación en el solapamiento de los nichos. Silva-Pereira (2010) estima un alto solapamiento (0.87) entre el ocelote y jaguarundi y Pereira (2010) menciona que existe un alto solapamiento del nicho trófico entre ocelote y puma, debido a la presión trófica que ejerce el jaguar en cuanto a la selección de presas de mayor tamaño, por lo cual el puma elige presas de tamaño mediano.

Konecny, (1989) menciona que el solapamiento trófico entre carnívoros está estrechamente relacionado a el tamaño corporal de los depredadores, donde especies con aproximadamente igual peso corporal tienden a capturar presas de igual o menor tamaño, el tigrillo y el jaguarundi tienen aproximadamente el mismo tamaño y por lo tanto pueden elegir especies presa similares, sin embargo es importante considerar la separación temporal (Walker *et al.* 2007) ya que el tigrillo es de actividad nocturna y el jaguarundi diurna, resultando una separación del nicho trófico y un bajo nivel de solapamiento.

7.6 CONCLUSIONES.

Los mesocarnívoros que se distribuyen en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa” son especies generalistas que consumen principalmente mamíferos pequeños y medianos, aves y reptiles, específicamente el ocelote presenta una especialización hacia el consumo de conejos, ya que existe la posibilidad de una alta densidad poblacional de esta especie, debido a que también la zorra gris presentó preferencia por el conejo en su dieta.

Generalmente el ocelote consume presas de igual o menor tamaño que él, pero en ocasiones puede consumir presas más grandes, como el venado, lo cual se ha reportado ya en México y para otros felinos de similar tamaño al ocelote.

Aparentemente el tamaño de las muestras obtenidas e identificadas para tigrillo, jaguarundi, puma y zorra gris, son poco representativas de la dieta de estas especies, ya que por consecuencia fueron encontradas pocas especies consumidas, dando resultados bajos en cuanto a la amplitud del nicho para estas especies.

Se determinó en este estudio de dieta que la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa” alberga un gran número de especies animales que se encuentran en total interacción intra e interespecífica, y que el consumo de las presas es suficiente para los depredadores en completar procesos fisiológicos y realizar actividades como la búsqueda de presas, búsqueda de pareja, reproducción y crianza.

La zorra gris también cumple una función de dispersora de semillas, ya que se encontraron una gran cantidad de ellas dentro de las heces, esto está reportado en diversos trabajos relacionados a sus hábitos alimenticios, además de que existen cambios en sus hábitos por temporada estacional.

Los resultados aquí obtenidos, pueden considerarse como iniciales, ya que es necesario aumentar el esfuerzo de recolecta, para todas las especies de carnívoros aquí descritas, además de comparar estaciones secas y húmedas, para conocer el cambio en cada una de las especies.

7.7 LITERATURA CITADA

- Abreu Kaue C., Moro-Rios Rodrigo F., Silva-Pereira José E., Miranda Joao M.D., Jablonski Estefano F. and Passos Fernando C. 2007 Feeding habits of ocelot (*Leopardus pardalis*) in Southern Brazil. *Mammalian Biology Short communication*.
- Aranda Marcelo, Rosas Octavio, De Jesús Rios José y Garcia Nashieli. 2002 Analisis comparativo de la alimentación del gato montés (*Lynx rufus*) en dos diferentes ambientes de México. Acta zoológica Mexicana (nueva serie), Número 087. Instituto de Ecología A.C. Xalapa, México. pp. 99-109.
- Aranda Sanchez J.Marcelo., 2012. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)
- Ackerman Bruce B., Lindzey Frederick G. and Hemker Thomas 1984. Cougar Food Habits in Southern Utah. *The Journal of Wildlife Management*, Vol. 48, No. 1, pp. 147-155
- Aguilar S.M, 2011. Dieta de la zorra gris: ¿Es legítimo dispersor de las semillas que consume en sierra de Quila Jalisco? Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara pp 55
- Arita, H. 1985. Identificación de los pelos de guardia dorsales de los mamíferos silvestres del valle de México. Tesis, Facultad de Ciencias, México, D. F. UNAM 128 pp.
- Baker L A, Warren R. J., and James W E. 1993. Bobcat Prey Digestibility and Representation in Scats. Proc. Annu. Conf. Southeast. Assoc. *Fish and Wildl. Agencies* 47: 71-79.
- Bianchi R de C., Rosa A. F., Gatti A. & Mendes S L., 2011; Diet of margay, *Leopardus wiedii* , and jaguarondi, *Puma yagouaroundi*, (Carnivora: felidae) in Atlantic Rainforest, *Brazil Zoologia* 28(1) 127-132
- Carrillo E. 2000. Ecology and conservation of white lepped peccaries and jaguars in Corcovado National Park, Costa Rica. PhD thesis, University of Massachusetts, Massachusetts, USA.
- Ceballos, G. y G. Oliva. 2005. Los mamíferos silvestres de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Fondo de cultura económica. México. 986.
- Chinchilla F. A. 1997. La dieta del jaguar (*Panthera onca*), el puma (*Felis concolor*) y el manigordo (*Felis pardalis*) (Carnivora: Felidae) en el Parque Nacional Corcovado, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 45(3): 1223-1229.
- Dalquest W. W. 1953. Mammals of the Mexican State of San Luis Potosí. Luisiana State University Press. 229 pp

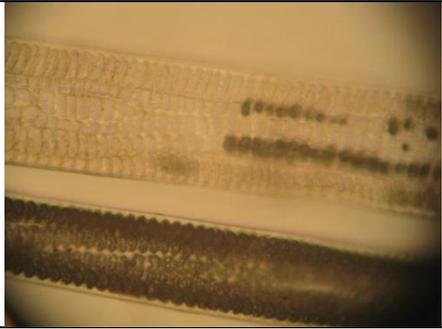
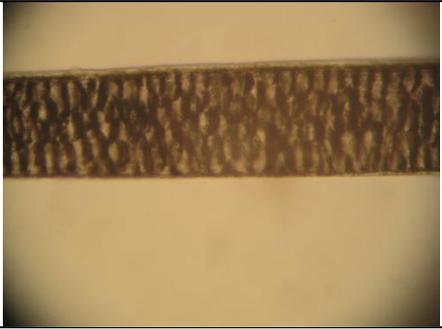
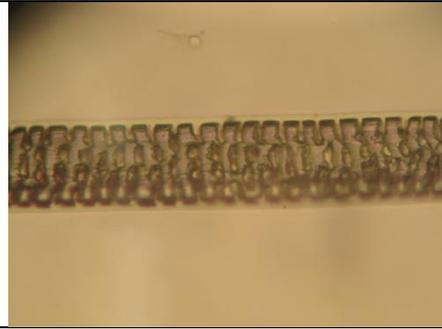
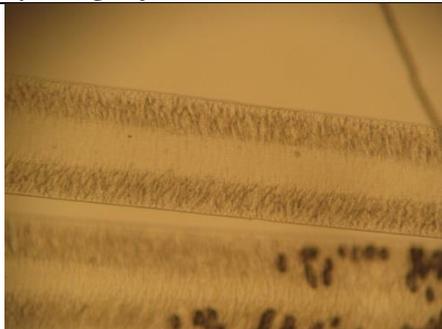
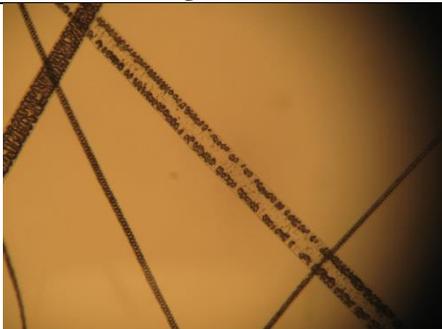
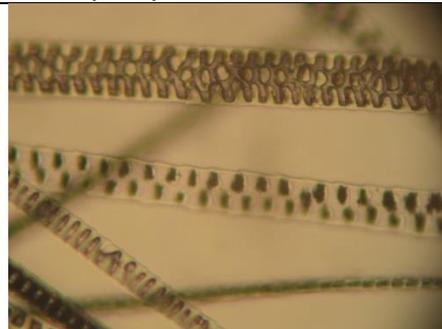
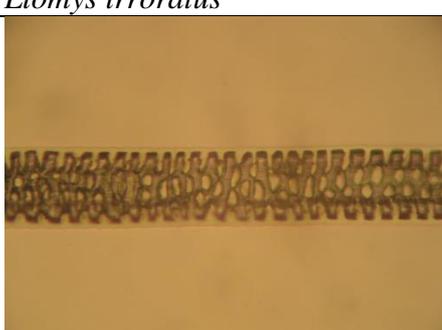
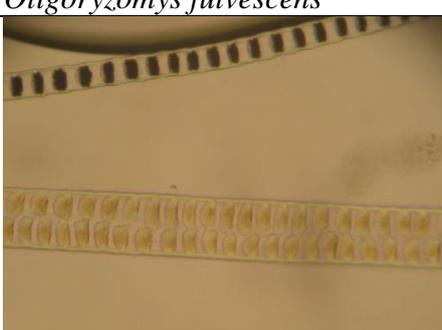
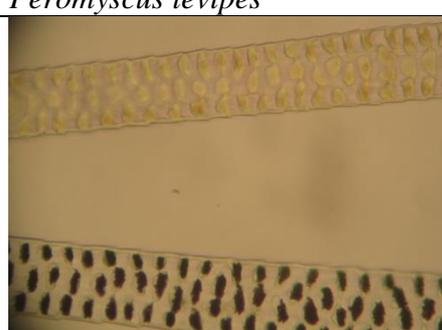
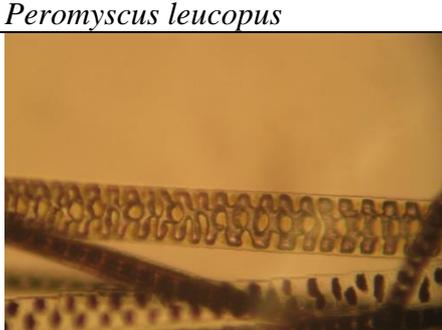
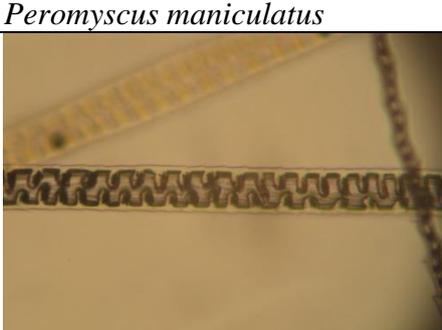
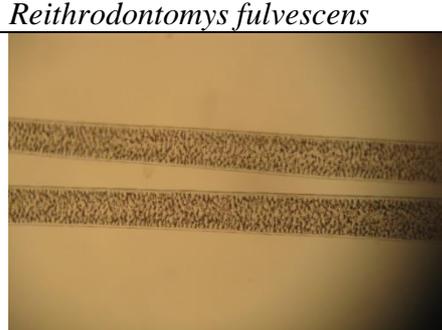
- Emmons, L.H. 1988, A field study of ocelots (*Felis pardalis*) in Peru. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 43.pp 138-139.
- Esparza, G. A. 1991. Variación estacional en la dieta de mamíferos carnívoros en la Estación Científica las Joyas. Tesis. Universidad de Guadalajara.
- Fedriani M. J., Fuller K. T., Sauvajot M.R. and York C E. 2000. Competition and intraguild predation among three sympatric carnivores. *Oecologia* 125: 258-270.
- Fuller, T. K and Sievert P. R. 2001. Carnivore demography and the consequences of changes in the availability. *Carnivore conservation* pp. 163-178 Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom.
- Giller P. S. 1984. Community structure and the niche. Chapman and Hall. London.
- Gittleman J. L. and Harvey P. H. 1982. Carnivore home-range size, metabolic needs and ecology. *Behav. Ecol. Sociobio.*, 10: 57-63.
- Graf, S. H. 1988. Fauna Silvestre en el bosque la Primavera; Hábitos alimentarios del coyote (*Canis latrans*) y Zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*). Tesis, Universidad de Guadalajara. pp 48.
- Guerrero S., Badii M. H., Zalapa S. S. y Flores A E. 2002. Dieta y nicho de alimentación del coyote, zorra gris, mapache y jaguarundi en un bosque tropical caducifolio de la costa sur del estado de Jalisco, México. *Acta Zoológica Mexicana* (nueva serie), 086. pp 119-137
- Hernández-Guzman A., Payán E and Monroy-Vilchis O. 2011. Hábitos alimentarios del *Puma concolor* (Carnivora: Felidae) en el Parque Nacional Natural Puracé, Colombia. *Rev. Biol. Trop.* Vol. 59 (3): 1285-1294
- Hutchinson G. E. 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia in Quantitative Biology*. 22. 415-427.
- Iriarte JA, WL Franklin, WE Johnson, and KH Redford. 1990. Biogeographic variation of foods habits and body size of the America puma. *Oecologia* 85:185-190.
- Konecny Michael J.1989. Movement Patterns and Food Habits of Fourd Sympatric Carnivore Species in Belize, Central America. *Advances in Neotropical Mammalogy*, 243-264
- Korschngen J. L. 1987. Procedimientos para el análisis de los hábitos alimentarios. Manual de Tecnicas de Gestion de vida Silvestre. *The Wildlife Society*. E. U. A. pp. 119-134.
- Levins R. 1968. Evolution in changing enviroments. University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- López-González C. and Gonzáles-Romero A. 1998. A Synthesis of current literature and knowledge about the ecology of the puma (*Puma concolor*). *Acta Zoologica Mexicana*. 75: 171-190.

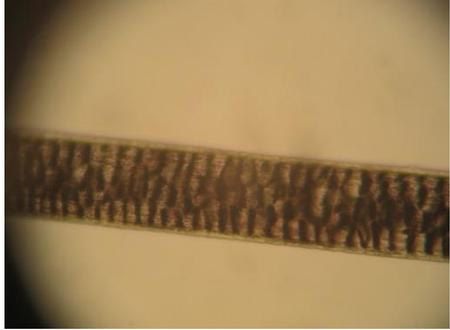
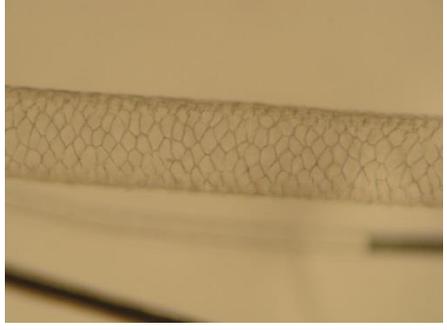
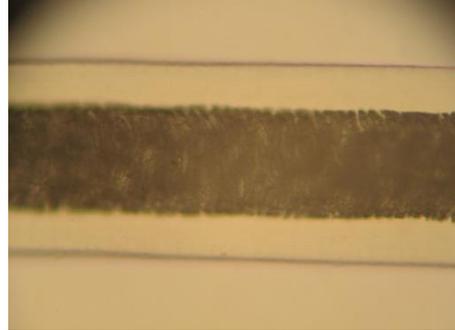
- Martínez H. A. 2013. Patrones de actividad y densidad del ocelote (*Leopardus pardalis*) en la Reserva de la Biosfera “Sierra del Abra Tanchipa”, San Luis Potosí, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de postgraduados.
- Moreno R. and Giacalone J. 2006. Ecological data obtained from latrine use by ocelots (*Leopardus pardalis*) on Barro Colorado Island, Panama. *Tecnociencia* Vol. 8, No 1.
- Motta-Junior J. C. and Martins K. 2002. The frugivorous diet of the mated wolf, *Chrysocyon Brachyurus*, in Brazil: *Ecology and conservation. En: International.*
- Núñez R., Miller B. and Lindzey F. 2000. Food habits of jaguars and pumas in Jalisco, Mexico. *Journal of Zoology*. 252: 373-379.
- Oliveira C. F. de, Rohe F. and Gordo M. 2009. Hunting Strategy of the Margay (*Leopardus wiedii*) to Attract the Wild Pied Tamarin (*Saguinus bicolor*). *Neotropical Primates*, 16 (1): 32-34.
- Ojasti J. 2000. Manejo de Fauna Silvestre Neotropical. SIMAB. Series No. 5. Smithsonian Institution/MAB Program, Washington, D.C.
- Oliveira T. G. de, 1998 *Leopardus wiedii*. *Mammalian Species* 579: 1-6.
- Ortega J. C. 1987. Coyote food habits in Southeastern Arizona. *The Southwestern Naturalist* 32, 152-154.
- Pianka E. R. 1973. The structure of lizard communities. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 4 53-74.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez, L.C. Bender and D. Daniel. 2003. Food habits of pumas in northwestern Sonora, Mexico. *Wild Society Bulletin*, 31, 528-535.
- Rueda P., Mendoza G. D., Martínez D and Rosas-Rosas O. C. 2013. Determination of the jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) diet in a tropical forest in San Luis Potosí, Mexico. *Journal of Applied Animal Research*. DOI:10.1080/09712119.2013.787362
- Silva-Pereira José E., Moro-Rios Rodrigo F., Bilski Diego R., Passos Fernando C. 2010. Diets of three sympatric Neotropical small cats: Food niche overlap and interspecies differences in prey consumption *Mammalian Biology Original Investigation*. 40-400.
- Smith E. P. 1982. Niche Breadth, resource availability, and inference. *Ecol. Monogr.* 13, 203-257.
- Sunquist M. E. and Sunquist F. 1989. Ecological constraints on predation by large felids. *Carnivore behavior, ecology and evolution*. Chapman, Londres, p.283-301.
- Torre de la. J. A. and Riva de la G. 2009. Food Habits of Puma (*Puma concolor*) in a Semiarid Region of Central Mexico. *Mastozoología Neotropical*. 16 (1): 211-216.

- Villalobos Escalante A. 2011. Dieta de la zorra gris (*Urocyon cinereoargenteus*) y su aporte a la dispersión de semillas en el jardín botánico de la universidad del mar Puerto Escondido, Oaxaca. Tesis Universidad del Mar.
- Villa Meza A de., Martinez Meyer Enrique, López González Carlos A. 2002 Ocelot (*Leopardus Pardalis*) Food Habits in a Tropical Deciduous Forest of Jalisco, Mexico. *American Midland Naturalist*, Vol. 148, No. 1. pp. 146-154.
- Walker R. S., Novaro A. J. Perovic P., Palacios R., Donadio E., Lucherini M., Pia M., and López M. S. 2007. Diets of Three Species of Andean Carnivores in High-Altitude Deserts of Argentina. *Journal of Mammalogy*, 88(2): 519-525.
- Weber W. and Rabinowitz A. 1996. A global perspective on large carnivore conservation. *Conservation Biology* 10, 1046-1054.

8 APÉNDICE.

8.1 Patrones medulares de pelos de guardia de presas de carnívoros.

		
<i>Sylvilagus floridanus</i>	<i>Sciurus aureogaster</i>	<i>Baiomys taylori</i>
		
<i>Liomys irroratus</i>	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	<i>Peromyscus levipes</i>
		
<i>Peromyscus leucopus</i>	<i>Peromyscus maniculatus</i>	<i>Reithrodontomys fulvescens</i>
		
<i>Reithrodontomys megalotis</i>	<i>Reithrodontomys mexicanus</i>	<i>Sigmodon hispidus</i>

		
<i>Sciurus deppei</i>	<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Nasua narica</i>

	
<i>Procyon lotor</i>	<i>Leopardus pardalis</i>
	
Restos de <i>Leopardus pardalis</i> depredado.	Restos de ave no identificada.