

COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad
Ganadería

**DETERMINACIÓN DE LA DIETA DEL JAGUAR (*Panthera onca*) Y PUMA
(*Puma concolor*) EN EL MUNICIPIO DE TAMASOPO, SAN LUIS POTOSÍ**

Rocío del Pilar Rueda Zozaya

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO.
Enero, 2010.

La presente tesis titulada: **Determinación de la dieta del jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*) en el Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí**, realizada por la alumna: **Rocío del Pilar Rueda Zozaya** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO


DR. OCTAVIO CÉSAR ROSAS ROSAS

ASESOR


DR. LUIS ANTONIO TARANGO ARÁMBULA

ASESOR


DR. FERNANDO CLEMENTE SÁNCHEZ

ASESOR


DRA. ANA MARÍA SIFUENTES RINCÓN

ASESOR


DRA. MARÍA MAGDALENA CROSBY GALVÁN

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2010.

DETERMINACIÓN DE LA DIETA DEL JAGUAR (*Panthera onca*) Y PUMA (*Puma concolor*) EN EL MUNICIPIO DE TAMASOPO, SAN LUIS POTOSÍ

Rocío del Pilar Rueda Zozaya, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2010

En México se encuentran los felinos más grandes de América, el puma (*Puma concolor*) y el jaguar (*Panthera onca*). Debido al incremento en las fronteras agropecuarias, el jaguar y el puma se encuentran en peligro de extinción en varias áreas de su distribución.

Aunada a su situación crítica, su comportamiento elusivo y críptico dificulta aún más la accesibilidad para realizar investigación acerca de su etología, hábitos alimenticios y estimación de parámetros poblacionales. Por ello, se ha tenido la necesidad de recurrir a otros métodos de investigación no invasivos que eviten el manejo directo, uno de estos métodos es la recolección de excretas para identificar los componentes de su dieta, con esta información, se puede evaluar si realmente estos felinos son los que están causando bajas a los ganaderos, y al ser una especie sombrilla, también puede dar noción del estatus de las demás especies que son parte de su dieta. Puede resultar difícil identificar en campo las excretas de varios carnívoros, por lo que es necesario relacionar los posibles rastros asociados que se encuentren en el lugar del hallazgo. Para evitar sesgos se cuenta con métodos alternativos de identificación en laboratorio, como la genética molecular.

La PCR, hibridación y etiquetado de pruebas de ADN con marcadores radiactivos permiten reconstruir a partir de fragmentos pequeños o degradados de muestras, miles de copias de ADN para distinguir especies y subespecies. Con estas técnicas se identificaron con éxito 16 de 31 excretas colectadas en el área de estudio.

Se colectaron 31 excretas de las cuales 13 fueron de puma y 8 de jaguar. Se realizó la identificación de pelos de presas encontrados en las heces, encontrando que el número total de presas para puma fue de 12, siendo el pecarí de collar y el tlacuache los más importantes. El número total de presas para jaguar fueron 9, y presentó en la dieta la misma importancia el pecarí de collar y el tlacuache, aunque se depredaron más individuos adultos. El índice de Pianka fue de 80.29%, lo cual sugiere que existe posiblemente una alta superposición en la dieta de los dos felinos que se encuentran en la sierra aledaña a Tamasopo, SLP.

Palabras clave: *Panthera onca*, *Puma concolor*, dieta, PCR.

DETERMINATION OF THE JAGUAR (*Panthera onca*) AND PUMA (*Puma concolor*) DIETS IN MUNICIPIO OF TAMASOPO, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO

Rocío del Pilar Rueda Zozaya, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2010

The mountain lion (*Puma concolor*) and the jaguar (*Panthera onca*) in Mexico there are the largest felids in the Americas. Due to of the excessive development of urban areas, habitat fragmentation, diminishing of natural prey and continuous pursuit of the felids because they are considered predators of cattle. Jaguar and the mountain lion are threatened in many areas of their original distribution. Considering their critical situation, jaguar and puma also have elusive and cryptic behavior that make difficult to conduct research about their basic ecology. For many reasons, it had been necessary to develop alternative methods to minimize contact with them. One of those non invasive methods is scat collection to identify their diet components. This information could be used to evaluate if actually they are responsible of cattle losses in conflict areas. On the other hand, jaguar is considered umbrella specie, and because of its presence in some areas, it may indicate the good health of the region.

Commonly it is difficult to identify scats of carnivorous species, because of that, it is necessary to have the expertise in identifying them precisely. Nonetheless, it is common to overestimate or underestimate the rate of samples for both species.

The PCR is a technique that performs with a template of few or degraded fragments of DNA to replicate millions of copies, and by the addition of some specific primers that aid in the generation of new strands.

We identified successfully, with molecular techniques, 8 jaguar scats and 13 puma scats of $N = 31$. We analyzed hairs and bones of preys present in the scats. The total number of prey type for cougar was 12; the most important preys were collared peccary and opossum. The total prey number for jaguar was 9; being also peccary and opossum the most important prey species found in their diet, but the difference was that jaguar predated older individuals in a higher proportion. The diet overlap based on a total of $n = 16$ scats ad the analysis conducted (Pianka index was 80.29% suggests overlap between both felids that inhabit contiguous mountain range of Tamasopo, SLP.

Key words: *Panthera onca*, *Puma concolor*, diet, PCR.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante 2007 y 2008.

Al Dr. Octavio Rosas por permitirme ser parte de este proyecto en el cual confió procuró y nos orientó para formarnos como futuros investigadores. Además, a Yuri Mungaray por su hospitalidad y apoyo durante mi estancia en Salinas, SLP. Las palabras nunca serán suficientes para agradecerles todo.

Al Dr. Luis Tarango le agradezco por su apoyo en todo el tiempo desde que ingresé a la maestría, su interés porque los alumnos tengamos una excelente formación y por su disposición para colaborar en este proyecto.

Al Dr. Fernando Clemente quiero agradecerle en especial por la gran ayuda y apoyo que me brindó para las correcciones de la tesis y por el interés mostrado en la formación de mis compañeros y de mí durante nuestra estancia en el Colegio de Postgraduados.

A la Dra. Magda Crosby por las correcciones para esta tesis y por su buena disposición para participar en los proyectos en los que me he formado desde la licenciatura.

Al Dr. Daniel Martínez y la Dra. Estela Méndez de la UAM – Xochimilco, les agradeceré siempre por “adoptarme” y toda la paciencia que me tuvieron durante este tiempo, así como toda la asesoría otorgada para la parte de laboratorio. Gracias porque con su ingenio, perseverancia y conocimientos pudimos terminar el análisis molecular de las muestras.

Al Dr. Germán Mendoza le agradeceré eternamente por su incondicional apoyo, gracias por estar siempre ahí y darme los mejores consejos en el momento justo.

Al Dr. José Luis Alcántara le agradezco especialmente por su ayuda para mejorar el trabajo de escritura de la tesis y todos los consejos que me ha brindado.

A la comunidad (SNM) en Tamasopo, SLP., por su gran ayuda para la recolecta de muestras y la hospitalidad que nos mostraron a mis compañeros y a mí.

A la M. en C. Julieta Vargas por su apoyo para la consulta de la Colección de Mamíferos del Instituto de Biología, UNAM.

Al M. en C. Juan Carlos López Vidal y la futura Dra. Cynthia Elizalde Arellano del Laboratorio de Cordados Terrestres del Instituto Politécnico Nacional por su ayuda, paciencia y consejos para la identificación de presas en las muestras. Además quiero expresar mi más grande admiración y respeto para todas las personas que aquí laboran puesto que con un presupuesto muy pequeño logran investigaciones de primer nivel.

Al Dr. Antonio Verdugo y el MVZ Adolfo del Laboratorio de Microbiología Molecular de la FMVZ de la UNAM por facilitarnos y dar el apoyo necesario para el análisis molecular de las muestras.

Al Dr. Ricardo Oropeza del Instituto de Biotecnología, UNAM en Cuernavaca, Mor., por la ayuda en equipo y material para los procedimientos de material radiactivo con las muestras. Al Dr. José Ramírez Lezama y Dr. José Pulido por la ayuda brindada para la obtención de muestras de referencia.

A mis papás por el apoyo y cariño que siempre me han dado, mi esposo Gustavo Martínez, mis tías, primas y primos; la familia Martínez Valdez que ahora también es mi familia.

A Agustín Villordo, Jesús Martínez, Wendy Coronado, Enrique Santoyo, Ruby González y Moisés Mendoza, esperando que nunca olviden que siempre contarán conmigo. En especial a Dulce Ávila por la gran amistad que ahora nos une.

A la Sra. Guadalupe Ramos, por su gran amistad y apoyo durante mi estancia en Salinas, por los consejos y la protección en cada uno de los días que estuve ahí.

A los alumnos del laboratorio de Microbiología de la UAM – Xochimilco: David, Ingrid, Larisa, Blanca, Luis, Mauricio, Alejandra, Angélica, Maru, Francisco, Wendy, Leylane y Osvaldo.

Al personal del C. de Postgraduados, la Lic. Celsa Fragoso, Lic. Carmen Padilla, Lic. Víctor Manuel Flores, Dr. José Luis Alcántara, Dr. José Herrera, Dr. Humberto Vaquera, Dr. Guillermo Carrillo. En el Campus San Luis Potosí a Norma y Lety Morales, Lidia López.

CONTENIDO

Introducción general	1
Objetivos	2
General	2
Particulares	2
Justificación	2
Área de estudio	3
Revisión literaria	
Métodos no invasivos y técnicas de biología molecular para el análisis de excretas	6
Biología molecular como soporte para la identificación de indicios	9
ADN mitocondrial y gene <i>citocromo b</i> mitocondrial	11
Extracción de ADN	12
Hibridación de ADN	13
Reacción en Cadena de la ADN polimerasa (PCR)	14
Hibridación de ADN con radioisótopos	15
Puma (<i>Puma concolor</i> – Jardine, 1834)	16
Jaguar (<i>Panthera onca</i> – Linnaeus, 1758)	17
Generalidades de los hábitos tróficos	18
Hábitos alimentarios y dieta del puma	20
Hábitos alimentarios y dieta del jaguar	21
Literatura citada	25

CAPÍTULO I.
TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
EXCRETAS

1.1	Introducción	31
1.2	Materiales y métodos	
1.2.1	Extracción y amplificación de ADN para comprobar la identidad del depredador	32
1.2.2	Hibridación de las muestras de ADN con membrana de nylon	34
1.2.3	Revelado con autorradiografía	35
1.2.4	Hibridación de muestras de ADN con dot blotting – radioisótopo de fósforo (³² P)	36
2.1	Resultados	
2.1.1	Identificación del depredador que dio origen a cada muestra de excreta	39
2.1.2	Hibridación con extracciones de ADN marcadas con fósforo radiactivo	46
3.1	Discusión	49
4.1	Conclusiones	54
5.1	Literatura citada	54

CAPÍTULO II
ANÁLISIS DE LA DIETA DEL JAGUAR Y PUMA

2.1	Introducción	57
2.2	Materiales y métodos	

2. 2. 1	Colecta de muestras	57
2. 2. 2	Análisis macro y microscópico	58
2. 2. 3	Cálculos de frecuencia y porcentaje de ocurrencia	59
3. 1	Resultados	60
4. 1	Discusión	67
5. 1	Conclusiones	71
6. 1	Literatura citada	72
6. 1	Recomendaciones y perspectivas	75
ANEXO I		
	Glosario	78
	Preparación de las soluciones (Capítulo I)	79
ANEXO II		
	Fotografías representativas de los pelos de presas y depredador hallados en las excretas.	81

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS

Figura 1. Mapa del área de estudio: Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí	4
Figura 2. Marcador λ – Hind III, ADN de puma	39
Figura 3. Marcador λ – Hind III, ADN de jaguar	39
Figura 4. Marcador λ – HindIII, 1, 2, 4, 5, 10, 12, 13, 14, 18, 19	40
Figura 5. Marcador λ – HindIII, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, x1, x2, x3, x4	41
Figura 6. A) Marcador λ – HindIII, extracción de ADN de puma con repetición B) Marcador λ – HindIII, extracción de ADN de jaguar con repetición	41
Figura 7. Marcador 123 pb, ADN puma, ADN jaguar, ADN perro	42
Figura 8. Marcador 123 pb, ADN puma, ADN jaguar, ADN perro	42
Figura 9. Marcador 123 pb, (1:1, 1:2, 1:4; 1:8)	43
Figura 10. Marcador 123 pb, (1:1, 1:2, 1:4; 1:8)	43
Figura 11. Marcador 100 pb, muestra 7, ADN puma (control)	44
Figura 12. Marcador 100 pb, muestras 1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 14, 16, ADN puma, ADN jaguar (controles)	45
Figura 13. Marcador 100 pb, muestras 20 (sin etiqueta), 22, 26, x1, ADN puma, ADN jaguar (controles)	45
Figura 14. Marcador 123 pb, muestras 1, 9, ADN puma, (control)	46
Figura 15. 1er carril marcador 123 pb, 2º carril muestra 1, 3er carril muestra 9, 4º carril ADN puma, (control)	46
Figura 16. 1er carril marcador 123 pb, 2º carril muestra 3, 3er carril muestra 9, 4º carril muestra 13	46

Figura 17. 1er carril marcador 123 pb, muestra 1 con ADN puma, muestra 1 con ADN jaguar, muestra 11 con ADN puma, muestra 11 con ADN jaguar, ADN puma y ADN jaguar	47
Figura 18. Placa radiográfica – ADN JAGUAR hibridado con ^{32}P	47
Figura 19. Placa radiográfica – ADN PUMA hibridado con ^{32}P	48
Figura 20. Placa radiográfica – ADN PUMA hibridado con ^{32}P	48
Gráfica 1. Porcentaje de muestras identificadas con éxito mediante PCR e hibridación con ^{32}P	49
Gráfica 2. Comparación del número de muestras que fueron identificadas con técnicas moleculares y análisis de pelo	49
Gráfica 3. Porcentaje de muestras que fueron identificadas correcta e incorrectamente por los observadores de campo	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tipos de presas y sus porcentajes de ocurrencia reportados en algunos estudios sobre hábitos alimenticios de jaguar y/o puma	20
Cuadro 3.1 Especies consumidas por el jaguar (<i>Panthera onca</i>) en el Municipio de Tamasopo, SLP, de acuerdo al análisis de restos de presas en excretas. N = 13	44
Cuadro 3.2 Frecuencias y porcentajes de ocurrencia de presas en las muestras de excretas de jaguar (<i>Panthera onca</i>)	61
Cuadro 3. 3 Biomasa relativa y estimación del número de presas individuales consumidas al año por jaguar	62
Cuadro 3. 4. Especies consumidas por el puma (<i>Puma concolor</i>) en el Municipio de Tamasopo, SLP, de acuerdo al análisis de restos de presas en las excretas N = 18	63
Cuadro 3. 5. Frecuencias y porcentajes de ocurrencia de presas en las muestras de puma (<i>Puma concolor</i>)	64
Cuadro 3. 6. Biomasa relativa y estimación del número de presas individuales consumidas al año por puma	65
Cuadro 3. 7 Cálculo de superposición de la dieta para jaguar y puma en Tamasopo, SLP	66

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las poblaciones de jaguar (*Panthera onca*) en las últimas décadas se han visto amenazadas por el impacto causado por algunas actividades humanas, por ejemplo, sus hábitats han sufrido fragmentación debido a la agricultura, tala inmoderada, cacería ilegal de sus presas y el incremento de zonas ganaderas (Rabinowitz, 1986; McRae, 2005; Haag, 2009, Núñez *et al.*, 2000, Eizirik, 2001). Además, el control no sustentable de depredadores es una práctica común en algunas áreas donde se adjudica a estos felinos la depredación sobre el ganado doméstico (Leopold, 2000).

Para poder hacer una estimación de la calidad del hábitat del jaguar es necesario determinar sus hábitos alimenticios y la importancia de las especies silvestres en su dieta, ya que, a pesar de que el hábitat y las presas del jaguar pudieran parecer adecuados, es posible que la falta de una base de presas suficiente pueda provocar depredación sobre el ganado doméstico (Rosas-Rosas, 2008).

El puma (*Puma concolor*) o león americano es el segundo felino más grande presente en el continente americano. Su hábitat es muy variado puesto que se le puede hallar tanto en climas desérticos como en bosques tropicales, serranías de pino-encino y selva mediana (Novack, 2005). Su dieta se compone principalmente de armadillo, tejón, venado cola blanca, pecarí de collar y lagomorfos, entre otros (Monroy-Vilchis *et al.*, 2009)

El puma ha sido muy atacado en los últimos años poniendo sus poblaciones en riesgo porque le adjudican las depredaciones de ganado y otros animales domésticos (Rosas-Rosas, *et al.*, 2003; Novack, 2005; Aranda, 1994, 1996; Núñez, 2000).

Se ha determinado la dieta de algunos depredadores utilizando los restos de presas encontradas en excretas colectadas en campo y se ha identificado la especie que la produjo relacionando rastros asociados, como huellas y rascaderas territoriales (Rosas-Rosas *et al.*, 2003; Rosas-Rosas *et al.*, 2008). Una vez separados los componentes de la muestra de heces, se comparan con una colección de referencia (Garla, 2001). Sin embargo, esta técnica necesita de la identificación precisa de los rastros hallados, ya que es muy probable que las excretas del jaguar, puma, coyote u otros carnívoros que comparten el mismo hábitat se identifiquen erróneamente. Estos errores pueden ocurrir cuando no existen rastros asociados que ayuden a realizar la correcta identificación y que se disponga de pocos elementos de soporte (Prugh, 2005). En este estudio se propuso añadir a la técnica tradicional de análisis

microscópico y la identificación del gene citocromo b del ADN mitocondrial, ampliamente utilizado para estudios de genética de poblaciones de vertebrados, como una herramienta importante para complementar las identificaciones en campo.

Las lecturas del ADN se hicieron en colaboración con el Laboratorio de Microbiología Agropecuaria de la UAM - Xochimilco. La identificación tradicional de los residuos encontrados en heces se realizó en la Colección de Mamíferos del Instituto de Biología de la UNAM y en el Laboratorio de Cordados Terrestres de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN. Este trabajo forma parte de un proyecto multidisciplinario que también contempló la distribución y abundancia del jaguar, la abundancia y disponibilidad de sus presas, y el establecimiento de un programa de manejo y conservación regional.

OBJETIVOS

General

Identificar las dietas de los jaguares y pumas en el Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí, México.

Particulares

1. Diferenciar las excretas de jaguar y puma.
2. Determinar la dieta de jaguar y puma.
3. Determinar la frecuencia y porcentaje de presas y biomasa consumidas por jaguar y puma.
4. Determinar el traslape de dietas de jaguar y puma.

JUSTIFICACIÓN

Existen escasos estudios reportados sobre hábitos tróficos del jaguar y puma que determinan la relación presa-depredador con las especies que componen su dieta. Recientemente se hizo un estudio sobre las densidades poblacionales de las presas que potencialmente componen la dieta de estos dos felinos (Ávila, 2009). Por lo anterior, se ha vuelto necesario investigar cabalmente las abundancias de jaguar, puma y las presas que componen su dieta en el área del presente estudio. Considerando que se ha reportado que la distribución del jaguar podría estar en función en parte por la distribución de una de sus presas más comunes, como el pecarí de collar (Aranda, 1996), este felino es considerado una

especie *sombrilla*, y la importancia de su conservación radica también en el hecho de que se encuentra citado como especie en peligro de extinción en diferentes listas de carácter internacional (NOM – 059 – 2001; CITES, 2008; IUCN, 2009).

Comparando la dieta de jaguar y puma en el Municipio de Tamasopo, que es un área de uso tanto para la agricultura como para la ganadería, con algunos manchones de zonas que conservan su vegetación original, se podrían establecer programas de manejo de hábitat para las presas, que a su vez contribuya a una mejor productividad y por lo tanto, el jaguar y el puma dispongan de un mayor número de presas y por tanto, que el ganadero no se vea afectado por depredaciones (Aranda, 1994; Núñez *et al.*, 2000; Rosas-Rosas, 2008).

ÁREA DE ESTUDIO

La Huasteca Potosina es una vasta planicie con una ligera inclinación hacia el oriente que se extiende al este y al norte de las estribaciones de la Sierra Madre Oriental. Destacan las sierras de San Martín, Tamazunchale, Nicolás Pérez y Tanchipa (Figura 1). La vegetación es de bosque tropical con la mayor exuberancia en las serranías y más escaso en la llanura costera, donde predomina el bosque tropical espinoso. En esta zona se encuentran ríos caudalosos, arroyos permanentes y manantiales. Muchas lagunas se forman en los ríos Tamuín, Tancuayalab, y Tanquián, destacando por su tamaño las lagunas Orilla Grande, Tigre y Lavaderos. La vegetación de sabana se alterna con bosques formados por árboles corpulentos, arbustos y lianas. Esta región tiene abundantes recursos naturales, entre los que destaca la vegetación tropical bañada por innumerables ríos (Villordo, 2009).

El área incluye un gradiente altitudinal que va desde los 250 hasta los 800 msnm. La mayor parte de la zona está caracterizada por un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano y 1,070 mm de promedio por año. La Huasteca Potosina se localiza dentro del frente oriental de la plataforma Valles – San Luis Potosí (Figura 1), que se ubica en la porción centro-oriental del altiplano mexicano y parte de la Sierra Madre Oriental. Hace millones de años, la región de La Huasteca estaba cubierta por el Océano Atlántico; el levantamiento de la Sierra Madre Oriental se inició a finales del Jurásico hasta el Cretácico, razón por la que su estratigrafía está constituida por una secuencia de rocas de mares someros o de plataformas, como en la formación El Abra (Ávila, 2009).

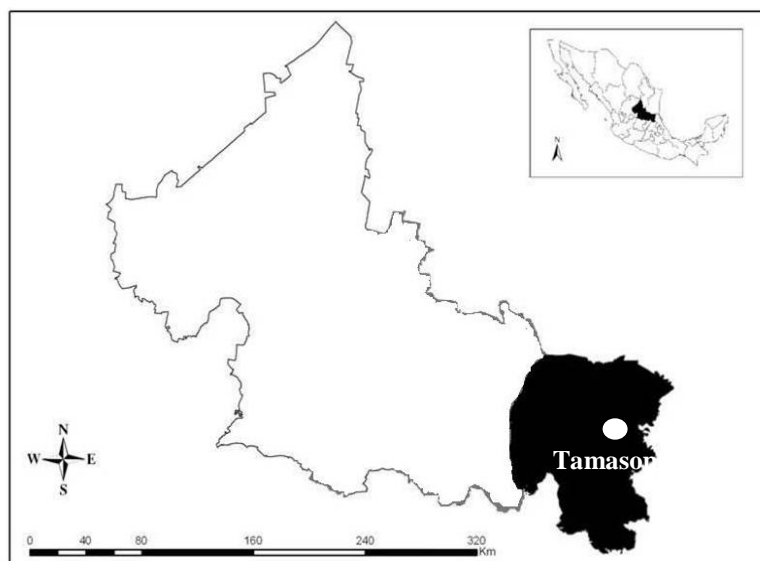


Figura 1. Mapa del área de estudio: Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí (Cortesía de Martínez-Calderas, 2009).

Vegetación

Se han registrado 231 especies de plantas vasculares pertenecientes a 192 géneros y 70 familias, distribuidas en las siguientes comunidades vegetales.

Selva baja subperennifolia. Corresponde a parte del bosque espinoso descrito por Rzedowski (1994). Se localiza al este de la Sierra de Abra Tanchipa en terrenos planos que se inundan en época de lluvias. La comunidad se encuentra fuertemente perturbada por desmontes y pastoreo, de manera que en grandes áreas ha sido sustituida por pastizales inducidos. Las especies características son: cuatecomate (*Crescentia alata*), cuajilote (*Parmentiera aculeata*), ébano (*Pithecellobium ebano*), huizache (*Acacia farnesiana*), gavia o chaparro prieto (*Acacia rigidula*) y tenaza (*Pithecellobium pallens*).

Selva mediana subperennifolia. Descrita por Rzedowski (1994) y en el INEGI (2005), es equivalente a parte del bosque tropical perennifolio. No es muy abundante y sólo se localiza en pocas zonas protegidas entre los 650 y 700 msnm aproximadamente, donde se mezcla con la selva baja caducifolia. Las especies características son: oxitle (*Brosimum alicastrum*), escobillo (*Mirandaceltis monoica*), mauto (*Lysiloma divaricada*), palo mulato (*Bursera simaruba*), mahuirá (*Wimmeria concolor*), mora (*Clorophora tinctoria*), uvero (*Coccoloba barbadensis*), palmilla (*Chamaedorea radicalis*), malacate (*Exostema mexicanum*) y viuda (*Bomarea hirtella*).

Selva baja caducifolia. Constituye el mayor porcentaje de vegetación y corresponde al bosque tropical caducifolio descrito por Rzedowski (*op. cit.*). Se localiza desde los 300 hasta los 700 msnm. En muchas zonas ha sido sustituida por vegetación secundaria, particularmente palmares de *Sabal mexicana* en las partes bajas y de *Brahea dulcis* en las zonas altas. Las especies características son: tepemezquite (*Lysiloma microphyllum*), soyate (*Beaucarnea inermis*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), laurel (*Phoebe tampicensis*), palo mulato, guayabillo (*Myrcianthes fragans*), vara blanca (*Croton niveus*), palo de flecha (*Sapium appendiculatum*), chirimoya (*Annona globiflora*), guamara (*Bromelia pinguin*), helecho (*Adiantum tricholepis*), abanico (*Celosia nitida*), tulillo (*Carex* sp.), bejuco (*Hippocratea celastroides*), zarcillo (*Cardiospermum* sp.) y bromelia (*Tillandsia ionantha*).

Encinar tropical. Se localiza en áreas muy restringidas en las partes bajas de la sierra formando manchones aislados en medio de la selva baja caducifolia. Actualmente se encuentra muy perturbado. Las especies características son: encino (*Quercus oleoides*), guácimo, palma real (*Sabal mexicana*), huizache, orozú (*Lantana camara*), cola de zorra (*Setaria geniculata*) y solimán (*Croton ciliatoglandulifer*).

Palmar. Es un tipo de vegetación secundaria derivada de la selva baja caducifolia; esta comunidad ha sido inducida por los constantes incendios. Las especies características son: palma real, coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*), guácimo, colima (*Zanthoxylum fagara*), charamusco (*Calliandra houstoniana*) y zarza (*Pisonia aculeata*).

Los tipos de vegetación secundaria reportados para la Sierra del Abra Tanchipa le confieren una marcada importancia en diversidad vegetal dentro de los ecosistemas presentes en La Huasteca Potosina, sobre todo si se considera que existe una proyección de estos tipos de vegetación más hacia el norte y que puede llegar a representar un corredor biológico entre los estados de San Luis Potosí y Tamaulipas.

Dentro de las especies vegetales notables podemos encontrar el soyate (*Beaucarnea inermis*), palma (*Brahea dulcis*), palmilla (*Chamaedorea radicalis*), chamal (*Dioon edule*), orquídeas (*Encyclia mariae*, *Stanhopea tigrina*, y *E. cochleata*) y chicharrilla (*Harpalyce arborescens*).

Fauna

Para la fauna se han registrado 161 especies de vertebrados, de los cuales 30% son mamíferos, 51% aves, 13% reptiles y 5% anfibios. Destacan la presencia de los felinos:

jaguar (*Panthera onca*), tigrillo (*Leopardus wiedii*), ocelote (*L. pardalis*), lince (*Lynx rufus*) leoncillo o jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), y puma (*Puma concolor*), (SEMARNAP, 1996; Villordo, 2009).

Se puede encontrar el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), temazate (*Mazama temama*), paca o tuza real (*Cuniculus paca*), coatí (*Nasua narica*), mapache (*Procyon lotor*) jabalí (*Pecari tajacu*), conejo (*Sylvilagus floridanus*), viejo de monte (*Eyra barbara*) zorra (*Urocyon cinereoargenteus*) zorrillo (*Mephitis* sp.), grisón (*Galictis vittata*), tlacuache de cuatro ojos (*Philander opossum*), tlacuache (*Didelphis virginiana*), armadillo (*Dasypus novemcinctus*), martucha u oso mielero (*Potos flavus*), comadreja (*Mustela frenata*); ratones (*Cryptotis mexicana*, *Dipodomys nelsoni*, *D. phillipsii*, *Perognathus lineatus*, *Neotoma goldmani*, *Peromyscus furvus*, *P. melanophrys* y *Microtus quasiater*), murciélagos (*Plecotus mexicanus* y *Rhogeessa hallen*), perrito llanero (*Cynomys* sp.) y ardillas (*Sciurus alleni* y *S. oculatus*) (Leopold, 2000). De la avifauna es notable la presencia de la cotorra de frente roja (*Amazona autumnales*), las calandrias (*Icterus gulariseI*) y el chincho (*Mimus polyglottos*). Entre reptiles y anfibios destacan la presencia de la víbora de cascabel (*Crotalus molossus*), la nauyaca (*Crotalus durissus*), la boa (*Boa constrictor*), considerada en peligro de extinción, representa el reptil de mayor tamaño (SEMARNAP, 1996).

REVISIÓN LITERARIA

Métodos no invasivos y técnicas de biología molecular para el análisis de excretas

Los carnívoros terrestres son muy susceptibles a la fragmentación y perturbación de su hábitat, causado por actividades relacionadas a la explotación de recursos naturales (Crawshaw, 1992; Núñez *et al.*, 2000; Conforti, 2003).

Debido a la legislación actual, son escasos los permisos para realizar investigaciones en animales, sobre todo si son de vida silvestre, cuyas especies estén en peligro de extinción y exista el riesgo de poner en peligro la vida del animal durante su manipulación (Kohn *et al.*, 1999; Haag *et al.*, 2009). Para tratar de compensar estas limitantes, se ha recurrido a otro tipo de técnicas que permiten conocer de manera indirecta el

tipo de alimentación, sus áreas de distribución, edad, sexo y enfermedades de muchos animales, sin la necesidad de hacer capturas (Ruell, 2006).

Existen numerosas especies que al ser difíciles de estudiar debido a la baja densidad de sus poblaciones, por lo que en apoyo a las investigaciones se pueden estudiar sus condiciones biológicas empleando técnicas indirectas o no invasivas, por ejemplo el análisis del contenido fecal para conocer los componentes de la dieta de una especie determinada, donde los métodos convencionales pueden ser confusos para personas no experimentadas, por lo que hacer un análisis exhaustivo que elimine por completo toda posibilidad de sesgos es primordial para el estudio de animales en peligro de extinción (Kohn *et al.*, 1999).

Para realizar un estudio de población es necesario hacer la identificación de las especies objetivo. Cuando dos especies son morfológicamente parecidas y sus áreas de distribución son simpátricas hace que la distinción entre ellas sea confusa, sobre todo si tienen un comportamiento críptico o elusivo (Eggert, 2003; Williams, 2004); por eso, la identificación se ve limitada a la observación de rastros indirectos de la actividad animal, tales como huellas, heces, trampas de pelo o trampeo con cámaras remotas. Ruell (2006) condujo un estudio en Brasil sobre la dieta del jaguar utilizando excretas y análisis molecular para corroborar su identificación logrando amplificar exitosamente 34 de 39 excretas que tenían catalogadas como pertenecientes a jaguar. En la localidad vecina lograron amplificar 7 de 9 muestras, mientras que en otro lugar solamente amplificaron 50% de las muestras, atribuyendo este resultado a las condiciones ambientales del terreno, la edad de las muestras y el tiempo de almacenaje.

En estudios genéticos de mamíferos en vida libre regularmente se usan pelos con folículos intactos para la obtención de ADN, los cuales resulta difícil recuperar después de haber pasado por los tractos digestivos de los depredadores. Onorato (2006) intentó recuperar el ADN de pelo presente en excretas de osos, coyotes y otros depredadores en un sitio con mucha depredación de elk (*Cervus elaphus*) en Idaho, EUA. Para comprobar la identidad del depredador separó primero sus pelos para extraer el material genético de los folículos y luego hizo extracción con la parte orgánica de la excreta. El resultado fue que obtuvo ADN de mejor calidad con el material orgánico, mientras que el folículo no siempre permanece unido al pelo, reduciendo las cantidades de extracción.

Los carnívoros se pueden diferenciar mediante huellas y/o excretas, puesto que los tamaños y formas para cada especie presentan algunas diferencias morfológicas (Núñez, 2000; Aranda, 1996; Taber, 1997). Aranda (1994) propuso un sistema que se ha empleado con resultados favorecedores para diferenciar huellas de jaguar y puma. El método es cuantitativo y está basado en las características morfológicas específicas de la huella de cada felino y en la relación de anchura que hay entre los dedos. Sin embargo, este criterio puede ser muy limitado, porque depende totalmente de la experiencia del investigador, cuando en campo sólo se descubren huellas parciales donde identificar si el individuo es juvenil, macho o hembra, o el tamaño pueden estar afectados por la composición del suelo donde se moldeó; algunas veces, al ser lodoso o arcilloso y el animal resbala, la huella puede parecer más grande de lo que en realidad es (Rosas-Rosas, *com. pers.*). Por otra parte, aunque algunos observadores pueden tener mucha pericia en la identificación de excretas en vida silvestre, evidencias aisladas (excretas o huellas incompletas sin otros rastros relacionados) de cualquier modo pueden resultar de utilidad y se ha sugerido que la identidad de las especies sea confirmada con apoyo del análisis de laboratorio (Williams, 2004; Prugh, 2005; Novack, 2005; McKelvey, 2006; Long *et al.*, 2007).

Los perros detectores pueden localizar con efectividad grandes números de excretas de carnívoros y servir como una herramienta de muestreo precisa para especies que existen en bajas densidades. Long *et al.*, (2007) durante dos años realizaron un estudio en EUA en el cual un equipo que trabajó con tres perros sabuesos detectó 1596 excretas de oso negro (*Ursus americanus*), lince y marta (*Martes martes*), de este muestreo, se lograron identificar con ADN las especies objetivo con una precisión de 84.33%. También Long *et al.*, (2007) hicieron otro estudio con sabuesos en el que compararon la efectividad de las cámaras remotas, los perros rastreadores y las trampas de pelo, obtuvieron que los perros fueron más efectivos que las cámaras remotas y las trampas al detectar todas las especies que también ocuparon en el estudio anterior; su éxito de detección fue de 65.3% para osos, 74.5% para pescadores y 78.6% para lince. Sólo necesitaron una visita para alcanzar más de 80% de la probabilidad de detectar excretas de oso negro y martas, mientras que para lince requirieron 5 visitas. El uso de perros rastreadores es un método que alcanza éxitos de identificación muy altos, pero tiene la desventaja de que es muy costoso el mantenimiento de un sabueso, la duración del entrenamiento es de dos años y debe ser muy constante. Gracias a este método se pueden minimizar los sesgos potenciales de la detección de excretas de determinada

especie, aprovechando las extraordinarias capacidades olfativas de los perros para rastrear a la especie buscada. Long (2007) condujo un estudio en el que se emplearon perros rastreadores para conseguir el mayor número de excretas posibles con una efectividad alta. En 2003 logró reunir 728 excretas y en 2004 reunió 868. Con la ayuda de técnicas moleculares logró confirmar que 710 heces eran de oso negro, 594 de mustélido y 42 de lince, logrando un éxito de detección de 86% de las especies buscadas en un tiempo adecuado para poder recuperar material genético de las excretas. El autor señaló que sus datos sugieren que el uso de perros entrenados puede haber incrementado hipotéticamente el número de excretas halladas de 5 a 15 veces sobre lo que hubiera hallado un equipo de personas que no contara con ellos. Cuando se tienen excretas morfológicamente idénticas de especies simpátricas resulta un verdadero desafío para el observador aprender a diferenciarlas con éxito. Kohn *et al.* (2004), señalaron que en un estudio les resultó muy confuso poder discernir entre excrementos de zorra gris con los de coyote, lince y tejón, incluso expertos naturalistas han fracasado en distinguir heces de marta de pino y zorra roja (O'Reilly *et al.*, 2008).

Las investigaciones genéticas no invasivas se han convertido en una herramienta de apoyo para los métodos de captura-recaptura, dando la oportunidad de identificar individuos en un área sin la necesidad de manipularlos (Dalén, 2004; Arrendal, 2007).

Los indicios encaminados a estudios forenses de fauna silvestre se podrían establecer con mayor confiabilidad al identificar un depredador como lo reporta Onorato (2006), quien identificó varios depredadores en sitios donde ocurrían frecuentemente bajas en el número de elk en Idaho, EUA. Originalmente se le habían imputado todas las matanzas a un puma residente del lugar, pero con los análisis de ADN ubicaron un grupo de osos negros y coyotes muy cercano a los corrales, así que la hipótesis original cambió porque la depredación no era causada únicamente por ese puma, además de que en numerosas ocasiones no había una matanza como tal, sino que después de la muerte de un elk por causas naturales o accidente, llegaban otros carnívoros, como zorras rojas (*Vulpes vulpes*), zorras grises (*Urocyon cinereoargenteus*) y perros ferales (*Canis familiaris*).

Biología molecular como soporte para la identificación de indicios

El análisis de ADN es un excelente recurso que en los últimos años se ha usado para investigaciones en fauna silvestre (Novack, 2005). Mills *et al.*, (2000) emplearon *primers*

específicos y diversas enzimas de restricción de felinos para estudiar con mayor profundidad muestras de pelos. Los *primers* son secuencias sintéticas de oligonucleótidos que son utilizadas para reconocer por apareamiento complementario secuencias blanco en ADN de plantilla, que es generalmente de origen genómico. Comúnmente, se usa un par de iniciadores en PCR para definir los extremos del producto que se desea amplificar, y a partir de ellos la ADN polimerasa utilizada inicia la polimerización. Dalén (2004) empleó esta técnica para distinguir muestras de heces de zorra del ártico (*Alopex lagopus*) y la zorra roja, que pueden resultar indistinguibles.

Farrell *et al.*, (2000) extrajeron ADN de excretas para discriminar cuatro especies de carnívoros que cohabitan simpátricamente en Venezuela, dos de esas especies son el jaguar y el puma. Enfatizaron la importancia de hacer análisis minuciosos de las excretas porque en el campo se confunden muy fácilmente en la identificación visual, sobre todo cuando no se encuentran otros indicios asociados (rascaderas, huellas). Los mismos autores utilizaron el ADN mitocondrial y amplificaron los segmentos obtenidos por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, técnica empleada en el presente estudio.

Pilot *et al.* (2006) hicieron un estudio con la marta de pino (*Martes martes*) y la marta de piedra (*M. foina*), cuyas excretas son idénticas, por lo que fue necesario crear un método con alta especificidad para poder identificarlas a nivel genético; desarrollaron entonces marcadores específicos que pudieran discriminar entre las dos especies. Como las heces de otros carnívoros también son parecidas, el método se basó en la longitud de alelos diferentes para que fueran definidos para cada una de las dos especies.

Mills *et al.* (2000), emplearon ADN mitocondrial como una herramienta para identificar 4 especies de felinos en EUA, hicieron PCR para amplificar dos porciones del genoma mitocondrial, luego desarrollaron el mapa de restricción para la región 16S del ARN ribosomal basado en secuencias conocidas para lince canadiense (*Lynx canadensis*), lince rojo, puma y gato doméstico (*Felis catus*). Obtuvieron ADN de buena calidad para amplificar las muestras y detectar las 4 especies de felinos.

El método más usado para detectar la presencia de tigre de Bengala (*Panthera tigris*) era el seguimiento de huellas, identificando incluso a nivel de individuo para conocer el número de tigres de una zona; se partía del supuesto de que las huellas son como el código de barras de cada individuo. Otro método está apoyado con las cámaras remotas, donde al capturar la imagen de un tigre se observa su patrón de rayas obteniendo así la abundancia de

tigres. Sin embargo, ambos métodos han mostrado algunas desventajas; por ejemplo, la interpretación de huellas es en algunos casos complicada y depende del rigor del análisis estadístico y como se colecten las mismas, y respecto a las cámaras donde hay alta densidad de tigres disminuye la probabilidad de identificar a cada uno de ellos, por lo que Bhagavatula (2006) recurrió al uso de heces como una fuente de ADN para genotipificar individuos, donde obtuvo que 70% de las muestras colectadas fueron de tigre, mientras que el resto correspondieron a leopardo (*Panthera pardus*).

Debido a la dificultad de extraer ADN de muestras degradadas por el tiempo, Haag *et al.* (2009), desarrollaron un método para diferenciar excretas de jaguar y puma basado en técnicas moleculares de ADN. Tuvieron un éxito de identificación del 87% con las muestras más frescas, pero con las que tenían más tiempo de almacenaje sólo pudieron aislar material genético de tan solo una muestra de un total de 15. Existen algunas regiones en el gen que pueden extraerse a pesar de estas condiciones, un ejemplo es el citocromo b, que Bidlack (2007) utilizó para identificar siete especies de carnívoros en San Francisco, EUA donde de 243 muestras logró amplificar 85% de ellas.

ADN mitocondrial y gene *citocromo b* mitocondrial

El ADN mitocondrial de un animal es una pequeña molécula circular, compuesta de 15 a 20 kb (kb = 1000 pares de bases nitrogenadas), aproximadamente 37 genes que codifican para 22 ARNt, 2 ARNr y 13 ARNm. El genoma de una mitocondria carece de intrones, tiene pequeños espacios intergénicos donde los fragmentos de lectura pueden llegar a transponerse.

El ADN mitocondrial cambia a diferentes tasas, permitiendo que regiones adecuadas sean escogidas para responder las preguntas del estudio que se realice. El ADN mitocondrial se hereda maternamente en la mayoría de las especies, y se sugiere que no presenta recombinación (DeYoung, 2005). En células de mamífero el ADN mitocondrial es muy compacto, incluso algunos genes se superponen, casi cada par de gen podría codificar para una proteína. En el genoma mitocondrial, hay dos *loci* que son los más prominentes, el *citocromo b* y el *oxi3* (Lewin, 2008).

El citocromo b (*cytb*) del ADN mitocondrial se emplea para siete de los carnívoros más comunes en el oeste de Norteamérica. Es uno de los citocromos implicados en el transporte de electrones de la cadena respiratoria de la mitocondria, contiene ocho

hélices transmembranales conectadas por dominios entre o fuera de la membrana (Green *et al.*, 1997).

Las secuencias del *cytb* han sido empleadas exitosamente para identificar grupos taxonómicos incluso hasta nivel de subespecie, por ejemplo en el ave pechiazul *Luscinia svecica svecica* y *L. s. namnetum* (Questiau *et al.*, 1998). El uso del *cytb* se ha expandido mucho en las investigaciones, por lo que se está considerando un marcador de uso universal, también en el sentido de que los resultados pueden ser comparados fácilmente. (Irwin *et al.*, 1991).

Extracción de ADN

Con una solución detergente como EDTA o SDS se empieza a realizar la extracción de ADN, para eliminar los cationes divalentes, desestabilizando la membrana celular e inhibiendo las enzimas que degradan el ADN o ADNAsas. El detergente solubiliza los lípidos de la membrana, permitiendo que se liberen los componentes. El remanente contiene ADN, ARN, proteínas, lípidos, carbohidratos, entre otros. Para eliminar proteínas se puede usar la proteinasa K, aunque también es importante eliminar enzimas que puedan degradar los ácidos nucleicos, para ello se puede emplear una solución de fenol con cloroformo, ya que estas sustancias son apolares y permiten dividir el lisado en dos fases, una acuosa y otra con lípidos y restos orgánicos. Cuando se mezclan estas fases las proteínas se desnaturalizan y se precipitan, mientras que los ácidos nucleicos permanecerán en la fase acuosa (Dale, 2002; Sambrook, 2001).

Ya que se tiene la fase líquida con los ácidos nucleicos, es importante realizar una precipitación puesto que se hallan muy diluidos en la solución, de modo que puedan concentrarse en una pastilla o pellet y que sea más factible su aislamiento. Para ello se emplea el alcohol isopropílico y una solución salina (como acetato de sodio), que junto con la presencia de cationes monovalentes de K^+ , Na^+ o NH_4^+ favorecen la precipitación de los ácidos nucleicos después de centrifugar el microtubo con la muestra, dando como resultado la pastilla concentrada de ADN en la parte baja del tubo (Dale, 2002).

Para visualizar la extracción de ADN se elaboran geles de diversos materiales, principalmente de agarosa. Cuando las moléculas de ADN (con carga negativa) se someten a un campo eléctrico, viajan a través de él hacia el polo positivo. La composición porosa del

gel le permite al ADN migrar por la red de la agarosa con base a su tamaño y si está formada por una o dos hélices (Dale, *op. cit.*).

Hibridación de ADN

Las técnicas de hibridación están basadas en las propiedades fisicoquímicas de los ácidos nucleicos, así como en la complementariedad entre las bases púricas y pirimídicas (Adenina – Timina, Guanina – Citosina), la desnaturalización y la reversibilidad del proceso de separación de las hebras de ADN por el reacomodo de las hebras nuevamente en dos cadenas. La renaturalización de las hebras por la reformación de los puentes de hidrógeno se conoce como *hibridación* (Snustad, 2006). Si dos fragmentos similares (pero no idénticos) de ADN son mezclados, desnaturalizados y renaturalizados, algunos de ellos formarán híbridos con sus mitades complementarias y otros serán totalmente híbridos. Las altas concentraciones de sal favorecen la estabilidad de los híbridos formados debido a que las cargas negativas de los grupos fosfato del esqueleto del ADN causan una repulsión electrostática entre las dos cadenas. Esta concentración de sales se regula con el citrato salino estandarizado (SSC).

Para muestras con ADN de doble hélice se requiere calentar hasta la ebullición las pruebas antes de la hibridación y fijarlas en una membrana de nylon o nitrocelulosa, posteriormente se pasa al objetivo en la solución de hibridación. Después de la hibridación que toma lugar en un cuarto sin radiación solar y con temperatura controlada (± 36 °C), las pruebas que no se unieron se liberarán por medio de lavados. Donde la prueba se ha hibridado con el ADN que sea parcialmente similar (i. e., organismos que pertenezcan al mismo género o familia), la alineación se interrumpe por la concentración salina de la solución de lavado y la temperatura a la que se realice. En un filtro de hibridación el objetivo es inmovilizado y la prueba queda libre en la solución de hibridación hasta que se une al objetivo (Tagu, 2003).

Cuando se usa una membrana de nitrocelulosa o nylon, después de la hibridación se sumerge en una solución amortiguadora de hidróxido de sodio, el cual libera el ADN de las células y lo desnaturaliza. Después, las moléculas de ADN de una sola hebra son fijadas en la membrana con radiación UV. Posteriormente, si la hibridación fue exitosa, se revelarán en una placa de rayos X las manchas negras donde se verán las posiciones de los híbridos que fueron formados.

Reacción en Cadena de la ADN polimerasa (PCR)

El sistema de extracción de ADN se basa en un sistema múltiple de *primers*, mejor conocido como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Uno de ellos se diseña como referencia global de todas las especies evaluadas, los demás deben diseñarse para que sean específicos para cada especie, por lo que aquí se elimina cualquier posibilidad de un falso positivo. Los que son específicos se ligan a diferentes distancias respecto del general, por lo tanto, el uso de todos los *primers* en un solo tubo de PCR dará como resultado fragmentos de ADN de diferente tamaño, dependiendo de la especie de la que es originada esa muestra que se corre en gel de agarosa (Prugh, 2005).

La reacción en cadena de la polimerasa es un proceso enzimático por el cual una región específica de ADN es multiplicada repetidamente para producir millones de copias de una secuencia particular. A partir de ng de ADN usado como plataforma o molde se pueden obtener de 300 a 300000 copias de una secuencia (Taberlet, 1996).

El primer paso para la formación de múltiples copias de ADN es el calentamiento de un fragmento de doble hebra, para que los puentes no covalentes se separen entre sí y queden las hebras separadas, a este proceso se le conoce como *desnaturalización*. Si la solución que contiene este material genético se enfría, los puentes de hidrógeno se volverán a formar de acuerdo a la complementariedad de las pares de bases de cada hebra de ADN. La temperatura a la cual se da la separación de las hebras de ADN provoca un cambio en sus propiedades físicas, esta temperatura es conocida como *melting temperature* (T_m) y va de los 85 a 95 °C.

La molécula de *Taq* polimerasa que se usa para la PCR, tiene la propiedad de permanecer estable a pesar de que la temperatura de desnaturalización alcance los 95 °C. La temperatura se baja entonces para alcanzar la óptima alineación, donde los dos *primers* pueden unir las hebras opuestas de ADN. La temperatura de alineación dependerá de la secuencia y longitud de los *primers*. Aunque hay programas de cómputo que pueden ayudar a predecir la temperatura ideal, muchas pruebas se concretan con ensayo y error, pero normalmente fluctúa entre los 40 y 60 °C, pero si la plataforma contiene una cantidad grande de G-C la temperatura de alineación debe ser mayor, hasta de 70 °C. Posteriormente la temperatura pasa a los 72 °C, lo cual es normalmente la temperatura óptima para la extensión de una reacción PCR. La *Taq* polimerasa producirá hebras complementarias de

ADN a partir de los *primers*. La extensión procesa aproximadamente 1000 bases por minuto.

La polimerasa seguirá este procedimiento hasta que sea interrumpida, esto ocurre cuando la temperatura alcanza los 94 °C, en orden de comenzar con el siguiente ciclo de la PCR, el cual es normalmente idéntico en temperatura y duración a los previos. Conforme se va terminando el ciclo inicial de la PCR, se tienen moléculas de ADN de doble hélice por cada una que fue comenzada. Cada una contiene una hebra del molde original y una nueva hebra formada gracias a los *primers* y la polimerasa.

Hibridación de ADN con radioisótopos

Los átomos que poseen igual número de protones y diferente número de neutrones se dice que son isótopos entre sí. Se vuelven radiactivos cuando no tienen una combinación estable de protones y neutrones. Si se desintegra un radioisótopo da como resultado la liberación de energía en forma de radiación electromagnética (partículas). Durante su desintegración, se pueden liberar tres tipos de partículas: las alfa, que están compuestas de dos protones y dos neutrones; las beta, que están compuestas de un electrón; y las gama, que es una radiación de fotones de manera aislada o en combinación con las dos anteriores. El radioisótopo del P contiene partículas beta que liberan una cantidad elevada de energía (Alcama, 1999).

Para hacer aún más sensible la detección de bandas de ADN antes de la electroforesis se puede incorporar un radioisótopo a la extracción. Existen métodos no radiactivos que son más seguros y eliminan la posibilidad de generar desechos radiactivos, pero el poder de sensibilidad y detección de los marcadores radiactivos es mucho mayor (Green *et al.*, 1997; Alberts *et al.*, 2002), sobre todo el fósforo radiactivo, debido a que posee características de detección superiores a otros elementos usados en ensayos biológicos y no representa ningún riesgo si se manejan con las medidas precautorias pertinentes tanto para el usuario como para el material desechado (Meisenhelder, 2007).

El ^{32}P tiene un periodo de vida de 14 días antes de que comience su decaimiento, que es el momento en el que cambia la estabilidad del átomo y se libera la energía (Green *et al.*, 1997; Karp, 1998; Meisenhelder, 2007). El primer paso para etiquetar las pruebas con el fragmento de ADN deseado es incorporar moléculas de fósforo radiactivo en la PCR. El principio se basa en que el isótopo radiactivo puede ser incorporado en los fosfatos del ADN y emitir partículas β muy energéticas que son fáciles de detectar posteriormente por

autorradiografía. Una ADN polimerasa copia el ADN en presencia de nucleótidos radiactivos (marcados con ^{32}P , que es el que se emplea comúnmente) y así se forman sondas de ADN fuertemente marcadas por radiactividad para después hacer las reacciones de hibridación de los ácidos nucleicos. Las moléculas de ADN de cadena sencilla utilizadas para la detección de secuencias complementarias se conocen como sondas.

Después de que las extracciones han sido transferidas a la membrana de nitrocelulosa, el clon deseado puede ser detectado por su habilidad para hibridarse con una prueba de ADN (Ausubel, *et al.*, 2009). Las reacciones de hibridación se producirán siempre que entre dos cadenas de ácido nucleico de una sola hebra haya una secuencia de nucleótidos complementaria.

La ventaja de utilizar este método es que las reacciones de hibridación mediante sondas de ADN son tan sensibles y selectivas que pueden usarse para detectar secuencias complementarias cuya concentración sea hasta de una sola molécula por célula (Alberts *et al.*, 2002).

La autorradiografía es una técnica que permite visualizar los puntos donde se localiza el material radiactivo en las muestras estudiadas. Con este procedimiento se aprovecha que las partículas que emite el isótopo radiactivo activan la placa fotográfica como se le hace con una placa de rayos X. Si se pone en contacto directo la membrana con la sonda radiactiva fijada las partículas se pegan a la placa y se visualizan como pequeños puntos oscuros al hacer el revelado (Karp, 1998).

Los jaguares y los pumas son los felinos más grandes del continente americano, son localmente simpátricos en muchas partes de su distribución en México, Centro y Sudamérica (Rabinowitz, 1986; Emmons, 1987; Aranda, 1994; Núñez *et al.*, 2000; Polisar, 2002; Scognamillo *et al.*, 2003; Novack, 2005; Moreno *et al.*, 2006; Palmeira, 2008; Rosas-Rosas *et al.*, 2008).

Puma (*Puma concolor* – Jardine, 1834)

Es un felino de talla mediana y con mucha agilidad. La talla en estado adulto puede alcanzar alrededor de 80 cm de altura. La longitud de los machos adultos es en promedio de 2.4 m de longitud nariz-cola. Pesan en promedio 53 a 72 kg. Las hembras tienen talla y peso menores a los de los machos, en promedio 34-48 kg respectivamente (Salazar, 1932; Leopold, 1959).

La cabeza es redonda y pequeña en relación al resto del cuerpo, tiene orejas erguidas. Las patas delanteras tienen musculatura muy bien desarrollada; cuenta con cinco garras retráctiles en las patas delanteras y cuatro en sus patas posteriores. Puede ser tan grande como el jaguar, pero con menor musculatura y fuerza. No se considera que forme parte de los grandes felinos con capacidad de rugido, pues carecen de la laringe especializada y el hueso hioides. Vocalizan sonidos bajos, silbidos agudos, gruñidos y ronroneos, que pueden llegar a ser confundidos con las vocalizaciones de otros animales.

La coloración es uniforme, puede variar entre individuos e incluso entre miembros de la misma camada. El pelaje es generalmente dorado pero tiene matices de color gris plateado o rojizo y algunos parches más claros cerca de las mandíbulas, barbilla y cuello (Emmons, 1987).

Sus patas delanteras son proporcionalmente más fuertes y grandes comparándolo con los demás felinos; puede llegar a correr hasta a 55 km/h, aunque está mejor adaptado a carreras cortas y no tanto a persecuciones largas. Muy hábil para escalar y eludir a otros competidores o con cualquier señal que lo haga sentir amenazado.

Se ha visto que el tamaño del puma puede variar de acuerdo a la zona geográfica, encontrándose pumas hacia el ecuador más pequeños que hacia latitudes mayores. Esto puede explicarse debido a la regla de Bergmann, la cual dice que los tamaños corporales más grandes se esperan en climas más fríos, donde las latitudes son mayores (Kitchener, 1991).

Jaguar (*Panthera onca* – Linnaeus, 1758)

Es el felino más grande de América; en estado adulto mide en promedio 2.2 a 2.5 m desde la nariz hasta la punta de la cola. Puede pesar entre 57-113 kg, aunque se han registrado pesos de hasta 150 kg. Posee la estructura mandibular más fuerte de los felinos y el mayor peso relativo en la cabeza, por lo cual se explicaría la potencia de su aparato mandibular (Kitchener, 1991).

Como los demás miembros del género *Panthera*, posee el hueso hioides unido a la laringe mediante ligamentos, cualidad que le permite rugir. Posee ojos nictálopes, que le confieren una visión notable en la oscuridad. Es un excelente nadador adaptado a la caza de presas acuáticas y subacuáticas desde la superficie, a diferencia de otros felinos. El olfato está muy bien desarrollado, por lo que puede detectar a sus presas a grandes distancias

(Seymour, 1989). Cuando está en vida libre, depositan sus heces en sitios donde hicieron rascaderas (Rabinowitz, 1986).

El fondo de su piel es amarillo-anaranjado, con numerosos anillos o rosetas a los costados y lunares sobre la cabeza y cuello. Una condición genética especial conocida como melanismo puede causar que un jaguar tenga el pelaje negro, aunque a una distancia corta se pueden apreciar las rosetas. Se les conoce como panteras negras a estos ejemplares aún cuando no son de distinta especie (Seymour, *op. cit.*).

Los jaguares son cazadores oportunistas con más de 85 especies de presas reportadas en su dieta, la cual incluye mamíferos, reptiles y aves (Hatten, 2005). Es una especie importante en su ecosistema, ocupando la posición más alta como depredador y ecológicamente es considerado como una especie sombrilla en una amplia diversidad de hábitats (Soisalo, 2006).

Generalidades de los hábitos tróficos

Existen pocos trabajos acerca de hábitos alimenticios de los grandes felinos, por ejemplo, para el tigre de Bengala reportaron que realiza una selección de presas basado en preferencia y no en disponibilidad, puesto que dentro de las opciones que había en el lugar consumieron más chitales (*Axis axis*), sambares (*Cervus unicolor*) y langures (*Trachypithecus geei*), a pesar de que no tenían tanta disponibilidad, mientras había otras presas como el nilgai (*Boselaphus tragocamelus*) y chinkara (*Gazella bennettii*), que fueron poco preferidos a pesar de que tenían mayor disponibilidad que las otras presas. Estos resultados sugieren una preferencia (Bagchi, 2003) o selección positiva hacia chitales, sambares y langures (Hatten, 2005).

La depredación de ganado ha sido causa de que leones, chitas (*Acynonix jubatus*), hienas moteadas (*Crocuta crocuta*), perros salvajes (*Lycaon pictus*), chacales (*Canis mesomelas*), tigres, osos negros himalayos (*Ursus thibetanus*), leopardos, lobos (*Canis lupus*), jaguares, pumas, coyotes (*Canis latrans*) y otros carnívoros sean perseguidos y en algunos casos hasta exterminados por gente de comunidades que habitan con ellos y les han adjudicado pérdidas económicas por depredación (Palmeira, 2008; Rabinowitz, 1986; Rosas-Rosas *et al.*, 2003).

En comunidades estables de carnívoros, los más grandes son los que toman las presas de mayor tamaño y las diferencias que se den entre los miembros se dan

posiblemente para reducir la competencia, por ejemplo, en áreas donde el jaguar y el puma presentan simpatria, el segundo parece consumir presas más pequeñas, aunque no se ha podido comprobar cabalmente esto, muchos autores señalan esta separación ecológica de presas (Konecny, 1989; da Fonseca, 1990; Taber *et al.*, 1997; Polisar, 2002; Salesa *et al.*, 2006), en la que el puma evita tener un enfrentamiento con el jaguar, pues es por lo general de menor tamaño (Seymour, 1989). En zonas donde no está distribuido el jaguar pero el puma está presente se ha visto que consume presas grandes (Iriarte *et al.*, 1990). En otros estudios se ha encontrado que los carnívoros simpátricos son capaces de coexistir por medio de selección de diferentes hábitats, siendo que los competidores de menor fuerza y/o tamaño corporal pueden disminuir la intensidad de la competencia por medio de la cacería en diferentes horarios, por separación espacial de recursos, mostrando poca superposición en la dieta de jaguar y puma (Scognamillo *et al.*, 2003). En Asia, donde los tigres dominan el repertorio alimenticio al escoger las presas más grandes, el leopardo parece evitar el contacto con ellos, escogiendo presas de menor tamaño y cazando en diferentes horarios (Polisar *et al.*, 2002; Wegge, 2008).

Taber *et al.*, (1997) hicieron el primer estudio sobre hábitos alimenticios de jaguar y puma en el Chaco Paraguayo. Su tamaño de muestra fue mayor de 90 excretas y usaron un método de cromatografía de capa fina basado en los diferentes patrones de los ácidos biliares, con la finalidad de distinguir entre las heces de ambas especies. Las dietas analizadas no fueron significativamente diferentes, aunque reflejaban una tendencia en el norte del Chaco, donde el puma consumió mayor número de mamíferos de talla mediana y los jaguares los de mayor tamaño.

Se ha visto también este proceso ecológico con el tigre y leopardo en Nepal, donde las diferencias en el uso de hábitat fueron un componente importante en su separación ecológica (Seidensticker, 1976). Sin embargo, Taber (1997) encontró que el puma no parece evitar la presencia de jaguares al utilizar los mismos caminos para viajar, aunque estimó que más bien cazan en diferentes áreas, lo que sería una separación espacial para evitar la competencia de presas en el Chaco Paraguayo.

Núñez *et al.*, (2000) hicieron una investigación acerca de los hábitos alimenticios de los jaguares y los pumas en la Reserva de Chamela-Cuixmala, Jalisco. Calcularon las frecuencias de ocurrencia, el porcentaje de ocurrencia y la biomasa de cada especie de presa consumida. Los cálculos de la biomasa consumida por jaguares y pumas fueron ajustados

con un factor de corrección ($Y = 1.98 + 0.035x$) que fue desarrollado por Ackerman *et al.* (1984), donde Y es el peso del alimento consumido por excreta y x el total del peso de la presa viva. En una excreta, los residuos de las presas de mayor talla tienen menor probabilidad de ocupar una mayor proporción en la excreta. Si el porcentaje de ocurrencia de la presa encontrada en las excretas no está corregido a la biomasa consumida, habrá una sobreestimación relativa a las presas pequeñas en la dieta. Por tanto, la biomasa consumida provee una representación con mejor aproximación que el porcentaje de ocurrencia y la frecuencia de ocurrencia.

En el siguiente cuadro se presenta un resumen sobre los autores que han estudiado los tipos de presas y en ocasiones reportan los porcentajes en los hábitos alimenticios de jaguar y puma:

Cuadro 1. Tipos de presas y porcentajes de ocurrencia reportados en algunos estudios sobre hábitos alimenticios de jaguar y/o puma.

Autor	Tipo de dieta en jaguar y/o puma	
Schaller (1978)	Jaguar: ganado doméstico, capibara, perro, pecarí de collar y de labios blancos, nutria, tortuga.	
Rabinowitz (1986)	Jaguar: 17 taxa	
Emmons (1987)	Jaguar: tlacuache (cuatro ojos), ardillas, pacas, agutíes, capibaras, temazate, tamandúa, pecarí, mono araña y olingo.	
Aranda (1994)	Jaguar: 86% mamíferos, 10% aves, 4% reptiles.	
Heinen (1997)	Puma: venado cola blanca (50%), pecarí (19%), otras presas (pequeños mamíferos, roedores, reptiles; 19%) y ganado (12%).	
Taber <i>et al.</i> , (1997)	Jaguar: 23 taxa diferentes. 42% mamíferos medianos – grandes, 58% restante aves, reptiles e insectos.	Puma: 16 presas diferentes. 44% mamíferos medianos, 25% mamíferos pequeños, 13% mamíferos grandes y 18% de aves, reptiles e insectos.
Núñez <i>et al.</i> , (2000)	Jaguar: 8 especies de presas. Mamíferos talla grande a mediana: 98%, reptil (único): 2%	Puma: 16 especies de presas. Mamíferos talla mediana: 66%, reptiles 18%, otros (aves y mamíferos pequeños) 16%.
Garla <i>et al.</i> , (2001)	Jaguar: 87.3% mamíferos, 9.8% reptiles y 9.3% prociénidos	
Polisar <i>et al.</i> , (2002)	Jaguar: 60% mamíferos talla grande, 40% aves, reptiles y otros	Puma: 60% mamíferos de talla mediana, 40% aves, reptiles y otros
Rosas-Rosas <i>et al.</i> , (2003)	Puma: borrego cimarrón (30%), lagomorfos (25%), venado (12.5%), pecarí de collar (11%), reptiles y aves (7.5%), mamíferos de menor tamaño (14%).	

Rosas-Rosas <i>et al.</i> , (2008)	Jaguar: ganado (57.7%), venado (24.3%), lagomorfos (5.8%), pecarí de collar (4.7%), coatí (4.7%). Puma: ganado (8.7%), venado (57.3%), lagomorfos (4.5%), pecarí de collar (11.3%), coatí (5.7%), mamíferos de menor tamaño (12.5%).
Weckel <i>et al.</i> , (2006)	Jaguar: pecarí de collar (23%), oso hormiguero y agutí (13.6%).

Hábitos alimentarios y dieta del puma

Se han realizado pocos estudios acerca de los hábitos alimentarios del puma (Núñez *et al.*, 2000; Rosas-Rosas *et al.*, 2003, 2008). Unos de los pioneros en el estudio de dieta en felinos fueron Ackerman *et al.*, (1984) quienes hicieron importantes contribuciones en los cálculos de las demandas energéticas del puma de acuerdo a su edad, sexo y estado fisiológico; propusieron estimaciones basadas en la ecuación normal de la recta, que han sido hasta ahora la base más usada para todos los estudios de cálculos bioenergéticos en felinos.

Debido a que el puma es uno de los felinos con mayor distribución ocupando diferentes ecosistemas, su dieta puede variar considerablemente de acuerdo a la disponibilidad de presas en el sitio (Kitchener, 1991). Tiene hábitos crepusculares que dependen de las condiciones ambientales y factores ecológicos interrelacionados. Se alimenta de animales de un rango de talla amplio, desde ratones hasta presas de mayor tamaño que él. En zonas templadas depreda animales grandes, mientras que en áreas tropicales se enfoca más en animales que pesan menos de la mitad de su propio peso (Moreno, 2006). Mientras que los pumas dependen mucho de los venados en su dieta, a veces por más del 75% de su dieta cuando se distribuye en zonas templadas, parece ser más variada en regiones tropicales (Núñez *et al.*, 2000; Lindzey, 2003).

En 1997 Heinen hizo un estudio sobre los hábitos alimenticios del puma en Texas, encontrando en los análisis de contenido estomacal que el venado y el pecarí de collar fueron los tipos de presa más frecuentes, pero también halló restos de borrego y cabras en dos muestras, que representaron 9% del total colectado.

Núñez *et al.*, (2000) determinaron la dieta de jaguares y pumas de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco. Basaron su estudio en el análisis de 65 heces de puma y encontraron que existe un alto grado de similitud entre la dieta de ambas especies, la diferencia recayó en la aparente plasticidad que tuvo el puma para adaptarse a ambientes más extremos así como su capacidad para alimentarse de presas muy pequeñas, cuyo acceso no le implica un costo elevado en términos de energía. Obtuvieron que en esta región el

puma se alimenta en primer lugar de venado cola blanca, seguido por pecarí de collar, armadillo, coatí, iguana negra (*Ctenosaura pectinata*), roedores, reptiles menores, aves y otros mamíferos más pequeños. Para el jaguar la dieta no fue tan variada: venado cola blanca, pecarí de collar, armadillo, coatí, iguana negra, aves y otros mamíferos pequeños. Esto confirma la importancia que tiene la disponibilidad de presas como un factor determinante del tipo de dieta (Iriarte, 1990; Taber, 1997; Polisar *et al.*, 2002).

En Arizona McKinney *et al.*, (2006) determinaron que las poblaciones de borrego cimarrón (*Ovis canadensis*) se estaban disminuyendo por la depredación de puma, pero esto en realidad fue producto de la cacería furtiva, ya que en esa región la presa principal del puma es en realidad el venado bura (*Odocoileus hemionus*), por lo que al disminuir éste, el puma cambia su dieta hacia el borrego cimarrón.

Cuando el tamaño de la población de venados es limitado, el puma puede cambiar a otras especies disponibles, ya sean silvestres o domésticas (Heinen, 1997). La depredación de ganado por pumas ha sido documentada en su mayoría en áreas donde la distribución de los dos animales coincide y se han presentado situaciones que vulneran al ganado (manejo deficiente de los animales, áreas de sacrificio con pocos obstáculos para depredadores, entre otros). Shaw (1983), basado en estudios conducidos en ranchos de Arizona, reportó que los pumas en ocasiones matan becerros, y donde se presentan estos casos, son una verdadera pesadilla para los ganaderos, no obstante que hubo pumas que se alimentaron principalmente de roedores grandes, como el agutí (*Dasyprocta punctata*) y la paca. Iriarte *et al.*, (1990) en un estudio compararon los hábitos alimenticios del puma y sus subespecies a diferentes latitudes y determinaron los patrones ecológicos que podrían ayudar a explicar la selección de sus presas. En ese estudio, los ungulados (especialmente venado) fueron las presas más consumidas, promediando $68\% \pm 20$ de todos los tipos de presas en la dieta del puma, incluyendo el venado bura, el cola blanca, el alce (*Alces alces*), además del puercoespín (*Erethizon dorsatum*).

En un estudio de Scognamillo *et al.* (2003) sobre la coexistencia del jaguar y puma en los Llanos Venezolanos, se reveló que el puma consumió principalmente juveniles de pecarí de collar, venado, capibara y caimán (*Caiman crocodilus*), mientras que para el jaguar las presas más importantes fueron el pecarí de collar, el capibara y el pecarí de labios blancos. Sus resultados indicaron que el puma consumió sin selectividad, excepto por los juveniles de pecarí, a pesar de que había otras presas más disponibles. El puma también

consumió pecaríes y capibaras en proporción a sus ocurrencias. Aunque el tamaño de la muestra era de 12 excretas, estuvo lejos de ser conclusivo, además de que la dominancia de roedores grandes sugirió que el puma no buscaba preferentemente al pecarí como lo hacía el jaguar (Palmeira, 2008).

Novack (2005) hizo una comparación de dieta de pumas en un área protegida y en una de cacería, encontrando en ambas áreas que las dietas eran significativamente similares.

Hábitos alimentarios del jaguar

Los mamíferos terrestres son la presa principal del jaguar, aunque en algunas áreas donde se distribuye los reptiles son también un componente importante en su dieta, según un estudio hecho en Cocha Cashu, Brasil (Emmons, 1987). En ese estudio se reportó que el jaguar consumió pecarí de collar, agutíes, pacas, caimanes, venados y capibaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) en proporciones similares a sus densidades en el área de estudio. El pecarí fue consumido en mayor proporción a su abundancia, respecto a las otras presas, sugiriendo que es más vulnerable a la depredación en presencia de jaguar.

Aranda (1994) estudió los hábitos alimenticios del jaguar en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche analizando excretas y huellas asociadas a ellas. De acuerdo a sus resultados el pecarí de collar fue la especie más consumida (45.8%) de acuerdo al porcentaje de ocurrencia, seguido por el coatí con 25% y el temazate con 12.5%. Otras especies halladas en las excretas con menores porcentajes de ocurrencia fueron tepezcuintle, tamandúa, serpientes y tortugas cuyas categorías taxonómicas no fueron determinadas. Con el análisis de los resultados obtuvo que el jaguar mostró preferencia por animales jóvenes, sobre todo en la época lluviosa, que coincide con la temporada en la que se presenta mayor abundancia de crías. En ese año, Aranda hizo otro estudio de la importancia del pecarí en la alimentación del jaguar en la misma Reserva. El análisis lo hizo en función de la disponibilidad de presas, estableciendo que los animales con mayor abundancia relativa resultarían los más consumidos, pero esta suposición fue rechazada al encontrar que la presa preferida fue el pecarí al ser más consumido, no obstante su menor disponibilidad comparándolo con las abundancias del venado cola blanca y tamandúa. Enfatizó la importancia de la transposición de la distribución del jaguar y el pecarí en esa zona de la Península de Yucatán.

Weckel *et al.* (2006) realizaron un estudio en el que determinaron el oportunismo de los jaguares al momento de elegir una presa en la región Guam Bank del Santuario Cockscomb Basin Wildlife, Belice. Encontraron que, aparentemente, el jaguar hace una selección de presas basada en su disponibilidad, ésta fue medida con la ayuda de cámaras con sensor remoto, las cuales detectaron las presas potenciales y el tipo de actividad (matutina, diurna o nocturna). También se determinó si había una relación positiva de asociación entre los jaguares y sus presas a través del tiempo y espacio. Sus resultados mostraron que el armadillo, el pecarí y la paca constituyeron 83% de la dieta del jaguar, con una relación muy estrecha entre la elección y la disponibilidad de estas presas, lo cual sugiere que es un depredador oportunista por necesidad. Sin embargo, notaron que a veces el jaguar se alimentaba del pecarí de collar más de lo que había disponible, y si se toma en cuenta que los armadillos y las pacas son cuantitativamente pobres para la dieta del jaguar, la elección de las presas podría ser ocasionalmente selectiva debido a que busca la obtención de alimento sin invertir mucha energía.

Rosas-Rosas *et al.*, (2008) hicieron un estudio sobre la depredación del jaguar y puma a ganado doméstico en Sonora, reportando por primera vez que los becerros constituyeron la presa principal del jaguar en esa zona. La mayoría de las depredaciones ocurrieron durante la época de secas, preferentemente en hábitats ribereños o con cercanía a fuentes de agua permanentes, situación que coincidía con los manejos que realizaron los ganaderos al mover los hatos hacia estas áreas para proveerlos de cobertura termal, forrajes succulentos y agua. Tomando en cuenta que estas áreas tienen una topografía rugosa, vegetación densa circundante y fuentes de agua, se vuelven sitios ideales para el despliegue de conductas de acecho por parte de felinos y otros depredadores, incrementando la vulnerabilidad del ganado. Por otra parte, se ha visto que si disminuye la abundancia de individuos de una especie consumida por el jaguar, la que le siga en preferencia se verá afectada si no se vuelve a incrementar el número de individuos de la primera de su elección (Weckel, 2006).

El jaguar consume agutíes, pacas, venados y capibara en proporciones similares a aquellas estimadas para el área de estudio, en contraste el pecarí, fue consumido con mayor regularidad con respecto a su disponibilidad. El pecarí usualmente viaja en grupos y generalmente camina en una sola fila, dejando un fuerte olor y caminos visibles y es común que sean muy ruidosos. El jaguar debe ser capaz de detectarlos a distancia, y su

comportamiento en grupo puede hacer difícil esconderse. Scognamillo *et al.*, (2003) reportaron que el jaguar consumió presas en forma selectiva en Los Llanos Venezolanos, siendo las presas preferidas el pecarí de collar y el capibara, cazó menos pecarí de labios blancos en relación a su disponibilidad y tomó venado cola blanca y caimán menos de lo esperado de acuerdo a su abundancia. Hatten (2005) estimó que en el Suroeste de los Estados Unidos las especies de presas potenciales incluyen pecarí de collar, venado cola blanca, venado bura, coatí, zorrillo, mapache, liebre, ganado doméstico (bovinos y equinos). Weckel (2006) encontró que los jaguares consumen el pecarí de collar preferentemente, después el oso hormiguero y el agutí. Se ha visto en las últimas dos décadas que la dieta del jaguar ha ido variando dentro del Santuario Cockscomb, pues en años anteriores el armadillo se mantenía como la presa más importante. Cuando están presentes en bosques húmedos la abundancia relativa de presas pequeñas en su dieta puede reflejar una falta de presas mayores (Salesa *et al.*, 2006). En el 2002 este mismo autor encontró que las dos especies de pecarí eran igualmente abundantes, aunque los jaguares seleccionaron en mayor proporción al pecarí de collar.

Los jaguares son cazadores muy adaptables y oportunistas (Rabinowitz, 1986; Taber, 1997; Núñez *et al.*, 2000; Novack, 2005; Rosas-Rosas *et al.*, 2008) con una variedad de presas reportadas hasta de 85 especies, las cuales son principalmente mamíferos, reptiles y aves (Hatten, 2005). Se ha visto en algunos estudios que consumen pecarí en mayor proporción a la esperada de acuerdo a su abundancia, por lo que posiblemente exista una preferencia por esta especie (Aranda, 1993), aunque haya otras presas con mayor abundancia.

En cuanto a las partes que consumen de la presa, si se trata de presas de tamaño grande como venados, capibara o ganado ovino, Schaller (1978) indicó que el jaguar generalmente empieza a comer desde el pecho, cuello y paletas de la presa, mientras que el puma lo hace por la parte trasera (Hornocker, 1970); las vísceras normalmente las hacen a un lado antes de empezar a comer la presa (Rabinowitz, 1986). En el caso del jaguar, si la presa es muy grande la deja y permanece en los alrededores sin ocultarla, a diferencia del puma, que cubre los restos de su presa con hojas y ramas para volver a comerla posteriormente (Hornocker, *op.cit.*).

La coexistencia del jaguar y puma sugiere que han evolucionado en sus rasgos conductuales, presentándose una separación ecológica cuando comparten los recursos en un

sitio, permitiendo que cohabiten y no se vea afectado ninguno. El impacto humano ha interrumpido severamente los componentes de la depredación natural en muchas partes del mundo (Núñez *et al.*, 2000; Novack, 2005). Emmons (1987) indicó que el jaguar y el puma cuando disminuyen su consumo de biomasa deben compensar esta deficiencia con áreas de actividad mayores para poder cubrir sus requerimientos de energía.

Algunos estudios sugieren que los felinos grandes, similares y simpátricos toman una amplia variedad de presas, mayor que la de felinos pequeños, debido a que los mayores toman presas grandes, medianas y pequeñas y los menores toman sólo presas pequeñas (Konecny, 1989; Bagchi, 2003; Novack, 2005; Donadio, 2006; Moreno, 2006; Salesa, 2006). Sin embargo, Taber *et al.*, (1997) no encontraron evidencias de selección de dieta por tamaño de presas entre el jaguar y puma en el Chaco Paraguayo, explicando que dicho resultado pudo deberse a que al haber bajas densidades de ambos felinos no se produce competencia o que la estructura del hábitat permite que el jaguar tome ciertas presas y el puma otras.

Se ha visto que los felinos, como cazadores oportunistas, podrían ejercer una influencia que ecualiza el número de presas y podrían ser una de las causas que las mantienen en estabilidad cuando se dispara su crecimiento poblacional (Festa *et al.*, 2006; Wegge, 2008). La frecuencia en el consumo de presas depende mucho de la etapa fisiológica en que se encuentren al momento de alimentarse, puesto que hembras lactando con crías hasta de 2 años de edad, es notorio el incremento en la frecuencia de caza porque necesita cubrir sus requerimientos de energía y los de los cachorros (Lindzey, 2003). Las tasas de depredación deben tomar en cuenta lo anterior y de acuerdo a la actividad que tenga el individuo, para ello es importante realizar el cálculo de estos requerimientos en vida libre y no en cautiverio (Ackerman *et al.*, 1984).

LITERATURA CITADA

- Ackerman, B.B., F.G. Lindzey y T.P. Hemker. 1984. Cougar food habits in southern Utah. *Journal of Wildlife Management* 48: 147-155.
- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. Garland Science. New York, USA. 1463 pp.

- Alcamo, E. 1999. DNA Technology, The Awesome Skill. 2nd ed., Harcourt Academic Press. California, USA. 348 pp.
- Aranda, M. 1993. Hábitos alimentarios del jaguar (*Panthera onca*) en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche. Avances en el Estudio de los Mamíferos de México. Publicaciones Especiales. Medellín R y G Ceballos (eds).
- Aranda, M. 1994. Diferenciación entre las huellas de jaguar y puma: un análisis de criterios. *Acta Zoológica Mexicana* 63: 75-78.
- Aranda, M. 1994. Importancia de los pecaríes (*Tayassu* spp.) en la alimentación del jaguar (*Panthera onca*). *Acta Zoológica Mexicana* 62: 11-22.
- Arrendal, J., C. Vilà y M. Björklund. 2007. Reliability of noninvasive genetic census of otters compared to field censuses. *Conserv Genet* 8: 1097-1107.
- Ausubel, F. M. 2009. Current Protocols in Molecular Biology. Biophysical labeling methods in molecular biology. Appendix 1. John Wiley & Sons, Inc.
- Ávila, D. M. 2009. Abundancia del jaguar (*Panthera onca*) y de sus presas en el Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí. M. en C. thesis. Colegio de Postgraduados, Estado de México.
- Bagchi, S., P. Goyal y K. Sangar. 2002. Prey abundance and prey selection by tigers (*Panthera tigris*) in a semi-arid, dry deciduous forest in western India. *Journal of Zoology* 260: 285-290.
- Bhagavatula, J. y L. Singh. 2006. Genotyping faecal samples of Bengal tiger *Panthera tigris tigris* for population estimation: A pilot study. *BMC Genetics* 7: 1-12.
- Bidlack, A., S. E. Reed y P. Palsboll. 2007. Characterization of a western North American carnivore community using PCR-RFLP of cytochrome b obtained from fecal samples. *Conserv Genet*.
- CITES. 2009. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. (<http://www.cites.org>).
- Conforti V, F. C. 2003. Local perceptions of jaguars (*Panthera onca*) and pumas (*Puma concolor*) in the Iguazu National Park area, south Brazil. *Biological Conservation* 111: 215-221.
- Crawshaw, Q. H. B. P. G. 1992. A conservation plan for the jaguar (*Panthera onca*) in the Pantanal region of Brazil. *Biological Conservation* 61: 149-157.
- Dale J. y M. vonSchantz. 2002. From Genes to Genomes. Concepts and applications of DNA Technology. John Wiley & Sons, LTD. UK. 360 pp.

- Dalén, L., A. Götherström y A. Agerbjörn. 2004. Identifying species from pieces of faeces. *Conservation Genetics* 5: 109-111.
- Deyoung, R. R. Honeycutt. 2005. The molecular toolbox: Genetic techniques in wildlife ecology and management. *Journal of Wildlife Management* 69: 1362-1384.
- Donadio, E. y S. Buskirk. 2006. Diet, Morphology, and Intespecific Killing in Carnivora. *The American Naturalist*, 167.
- Eggert, L. S, J. A. E., D. y S. Woodruff. 2003. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Molecular Ecology* 12: 1389-1402.
- Eizirik, E., Kim, J.H., Menotti-Raymond, M., Crawshaw Jr, P.G., O'Brien, S. J. y W.E., Johnson. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, *Mammalia*, *Felidae*). *Mol.Ecol.* 10: 65-79
- Emmons, L. 1987. Comparative feeding ecology of felids in a neotropical rainforest. *Behav Ecol Sociobiol* 20: 271-283.
- Farrell, L., J. Roman y M. Sunquist. 2000. Dietary separation of sympatric carnivores identified by molecular analysis of scats. *Molecular Ecology* 9: 1583-1590.
- Festa, M., T. C., J.M. Gaillard, J. Hogg y F. Pelletier. 2006. Stochastic predation events and population persistence in bighorn sheep. *Proceedings of The Royal Society* 273: 1537-1543.
- Fonseca, G. A., B. D. A, y J. G. R. 1990. Forest Size and Structure: Competitive and Predatory Effects on Small Mammal Communities. *Biological Conservation* 53: 265-294.
- Garla, R.C., E. Z., F. S. y N Gobbi. 2001. Jaguar (*Panthera onca*) Food Habits in Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. *Biotropica* 33: 691-696.
- Green, E., B. Birren, S. Klapholz, R. Myers y P. Hieter. 1997. *Genome Analysis, A Laboratory Manual. Vol 1. Analyzing DNA.* Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Hagg T, A. S. S., C. De Angelo, A.C. Srbek, D.A. Sana, R.G. Morato, F.M. Salzano y E. Eizirik. 2009. Development and testing of an optimized method for DNA-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) faecal samples for use in ecological and genetic studies. *Genetica*.
- Hatten, J., A. Averill y W. Van Pelt. 2005. A spatial model of potential jaguar habitat in Arizona. *Journal of Wildlife Management* 69: 1024-1033.
- Heinen, R., S. Canon. 1997. Food habits of mountain lions in the trans-pecos region of Texas. *Wildlife Damage Management*. 101-105 pp.

- Hornocker, M. G. 1970. An analysis of mountain lion predation upon mule deer and elk in the Idaho primitive area. *Wildlife Monographs* 21: 1-39.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2003. Síntesis de información geográfica del estado de San Luis Potosí. Primera edición. Aguascalientes, Ags., México. Versión Digital.
- International Union of Conservation of Nature 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.2. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 12 January 2010.
- Iriarte, J., W. F., W. Johnson y K. Redford. 1990. Biogeographic variation of food habits and body size of the America puma. *Oecologia* 85: 185-190.
- Irwin, D., T. Kocher y A. C. Wilson. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution* 32: 128-144.
- Karp, G. 1998. *Biología Celular y Molecular*. McGraw Hill Interamericana. México. 746 pp.
- Kitchener, A. 1991. *The Natural History of the Wild Cats*. Comstock Publishing Associates. New York. 280 pp.
- Kohn, M., E. York, D. Kamradt, G. Haught, R. Sauvajot y R. Wayne. 1999. Estimating population size by genotyping faeces. *The Royal Society* 266: 657-663.
- Konecny, M. J. 1989. Movement Patterns and Food Habits of Four Sympatric Carnivore Species in Belize, Central America. *Advances in Neotropical Mammalogy*. 243-264 pp.
- Leopold, A. *Wildlife of Mexico. The Game Birds and Mammals*. 1959. University of California Press. 545 pp.
- Leopold, A. S. (2000) *Fauna silvestre de México*, México.
- Lewin, B. *Genes IX*. Jones and Barttlet Publishers. USA. 892 pp.
- Lindzey, F. G., W. D. Van Sickle, B. B. Ackerman, D. Barnhurst, T. P. Hemker, y S. P. Laing. 1994. Cougar population dynamics in Southern Utah. *Journal of Wildlife Management* 58: 619-624.
- Long, R., T. Donovan, P. Mackay, W. Zielinski y J. Buzas. 2006. Comparing scat detection dogs, cameras, and hair snares for surveying carnivores. *Journal of Wildlife Management* 71: 2018-2025.
- Long, R., T. Donovan, P. Mackay, W. Zielinski y J. Buzas. 2007. Effectiveness of scat detection dogs for detecting forest carnivores. *Journal of Wildlife Management* 71: 2007-2017.

- McKelvey, K., J. Vonkienast, K., Aubry, G. Koehler, B. Maletzke, J. Squires, E. Lindquist, S. Loch y M. Schwartz. 2006. DNA analysis of hair and scat collected along snow tracks to document the presence of Canada lynx. *Wildlife Society Bulletin* 34: 451-455.
- Mckinney, T., J. C. D., W.B. Ballard y S.R. Boe. 2006. Mountain Lion Predation of Translocated Desert Bighorn Sheep in Arizona. *Wildlife Society* 34: 1255-1263.
- Mcrae, B.H. Beier P., Dewald L.E., Huynh L.Y. y Keim P. 2005. Habitat barriers limit gene flow and illuminate historical events in a wide-ranging carnivore, the American puma. *Mol Ecol.* 14(7): 1965-1977.
- Meisenhelder, J. y S. Bursik. 2007. Safe use of radioisotopes. In: *Current Protocols in Molecular Biology*. Appendix 1F. John Wiley & Sons, Inc. NY, USA.
- Mills, L., K. Pilgrim, M. Schwartz y K. Mckelvey. 2001. Identifying lynx and other North American felids based on mtDNA analysis. *Conserv Genet* 1: 285-288.
- Monroy-Vilchis, O. y R. Rubio-Rodríguez. 2003. Guía de identificación de mamíferos terrestres del Estado de México, a través del pelo de guardia. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Moreno, R., R.W. Kays y R. Samudio Jr. 2006. Competitive Release in diets of ocelot (*Leopardus pardalis*) and puma (*Puma concolor*) after jaguar (*Panthera onca*) decline. *Journal of Mammalogy* 87: 808-816.
- Moreno, V., A. G., F. Campagnari, M. Milazzotto, C. Adania, J. García y E. De Souza. 2006. Genetic variability of *Herpailurus yagouaroundi*, *Puma concolor* and *Panthera onca* (Mammalia, Felidae) studied using *Felis catus* microsatellites. *Genetics and Molecular Biology* 29: 290-293.
- Novack, A. J, M. Main, M. Sunquist y R. Labisky. 2005. Foraging ecology of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in hunted and non-hunted sites within the Maya Biosphere Reserve, Guatemala. *Journal of Zoology* 267: 167-178.
- Norma Oficial Mexicana 059. IN PESCA, S. D. M. R. N. Y. (Ed.). México. 2001
- Núñez, R., B. Miller y F. Lindzey 2000. Food habits of jaguars and pumas in Jalisco, Mexico. *Journal of Zoology* 252: 373-379.
- Onorato, D., C. White, P. Zager y L. Waits. 2006. Detection of predator presence at elk mortality sites using mtDNA analysis of hair and scat samples. *Wildlife Society Bulletin* 34: 815-820.
- O'Reilly, C., M. Statham, J. Mullins, D.D. Turner y D. O'Mahony. 2008. Efficient species identification of pine marten (*Martes martes*) and red fox (*Vulpes vulpes*) scats using a 5' nuclease real-time PCR assay. *Conserv Genet.* 9 (3): 735-738.

- Palmeira, F. B. L., P.G. Crawshaw Jr, C.M. Haddad, K.M., P.M., B. Ferraz y L.M. Verdade. 2008. Cattle depredation by puma (*Puma concolor*) and jaguar (*Panthera onca*) in central-western Brazil. *Biological Conservation* 141: 118-125.
- Pilot, M., B. Gralak, J. Goszczynski y M. Postuszny. 2006. A method of genetic identification of pine marten (*Martes martes*) and stone marten (*Martes foina*) and its application to faecal samples. *Journal of Zoology* 1: 1-8.
- Polisar, J, I. M, D. Scognamillo, L. Farrell, M.E. Sunquist y J.F. Eisenberg. 2003. Jaguars, pumas, their prey base, and cattle ranching: ecological interpretations of a management problem. *Biological Conservation* 109: 297-310.
- Prugh, L.R., C. R. 2005. Molecular testing of observer identification of carnivore feces in the field. *Wildlife Society Bulletin* 33: 189-194.
- Questiau, S., M. C. Eybert y P. Taberlet. 1998. Recent divergence between two morphologically differentiated subspecies of bluethroat (Aves: Muscicapidae: *Luscinia svecica*) inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Molecular Ecology* 7 (2): 239-245.
- Rabinowitz, A. 1986. Jaguar predation on domestic livestock in Belize. *Wildlife Society Bulletin* 14: 170-174.
- Rosas-Rosas, O, R. Valdez, L.C. Bender y D. Daniel. 2003. Food habits of pumas in Northwestern Sonora, Mexico. *Wildlife Society Bulletin* 31: 528-535.
- Rosas-Rosas, O. 2008. Ecological Status and Conservation of Jaguars in Northeastern Sonora, Mexico. New Mexico, New Mexico State University.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez y L.C. Bender. (2008) Jaguar and puma predation on cattle calves in Northeastern Sonora, Mexico. *Rangeland Ecology & Management*. 61.
- Ruell, E., K. C. (2006) Evaluation of noninvasive genetic sampling methods for felid and canid populations. *Journal of Wildlife Management* 71: 1690-1693.
- Rzedowski, J. 1983. *Vegetación de México*. Editorial Limusa. México. 432 pp.
- Salazar, J. 1932. *Animales Mexicanos Mamíferos*. Museo Nacional de Historia Natural. México. 163-166 pp.
- Salesa, M.J., M. A., A. Turner, J. Morales. 2006. Inferred behaviour and ecology of the primitive sabretoothed cat *Paramachairodus ogygia* (Felidae, Machairodontinae) from the Late Miocene of Spain. *Journal of Zoology* 268: 243-254.
- Sambrook, J., D. y W. Russell. 2001. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 3^d ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. NY, USA. Vol 3. Protocols. Unit 10.
- Schaller G, P. C. 1980. Movement patterns of jaguar. *Biotropica* 12: 161-168.

- Scognamillo, D. I. E. M., M. Sunquist y J. Polisar. 2003. Coexistence of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in a mosaic landscape in the Venezuelan llanos. *Journal of Zoology* 259: 269-279.
- Seidensticker, J. 1976. On the ecological separation between tigers and leopards. *Biotropica* 8:225-234.
- SEMARNAP. Consideraciones Sobre la Historia de las ANP y la Conservación de la Naturaleza en México. 1996. Secretaría de Marina Recursos Naturales y Pesca.
- Seymour, K. L. (1989) *Panthera onca*, mammalian species. *The American Society of Mammalogist* 340: 1-9.
- Snustad, D. P., M. J. Simmons. 2006. *Principles of Genetics*. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc. NJ, USA. 755 pp.
- Soisalo, M. K. S. M. C. 2006. Estimating the density of a jaguar population in the Brazilian Pantanal using camera-traps and capture-recapture sampling in combination with GPS radio-telemetry. *Biological Conservation* 129: 487-496.
- Taber A B, A. J. N., N. Neris y F. H. Colman. 1997. The Food Habits of Sympatric Jaguar and Puma in the Paraguayan Chaco. *Biotropica* 29: 204-213.
- Taberlet, P., S. Griffin, B. Goossens, S. Questiau, V. Manceau, N. Escaravage, L. Waits y J. Bouvet. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 24: 3189-3194.
- Tagu D, C. Moussard. 2003. *Techniques for Molecular Biology*. Science Publishers. NH, USA. 39-42, 91-101 pp.
- Villordo, J.A. 2009. Distribución y estado de conservación del jaguar (*Panthera onca*) en San Luis Potosí, México. M.S. thesis, Colegio de Postgraduados, Estado de México.
- Weckel, M., W. Giuliano y S. Silver. 2006. Jaguar (*Panthera onca*) feeding ecology: distribution of predator and prey through time and space. *Journal of Zoology* 270: 25-30.
- Weckel, L. M., W. G., S. S. 2006. Cockscomb revisited: jaguar diet in the Cockscomb Basin Wildlife Sanctuary, Belize. *Biotropica* 38: 687-690.
- Wegge, P., M. Odden, C. Pokharel y T. Storaas. 2008. Predator-prey relationships and responses of ungulates and their predators to the establishment of protected areas: A case study of tigers, leopards and their prey in Bardia National Park. *Biological Conservation* 142: 189-202.
- Williams, C., J. Johnson. 2004. Using genetic analyses to identify predators. *Sheep and Goat Research Journal* 19: 85-88.

CAPÍTULO I.

TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE EXCRETAS

1.1 Introducción

Al hacer identificaciones del origen de excretas de carnívoros se pueden cometer errores, sobre todo si no se cuenta con la experiencia necesaria o si han sido destruidas evidencias por el paso del tiempo. Actualmente, para complementar las investigaciones se cuenta con herramientas de apoyo como algunas técnicas de biología molecular, que permiten extraer y amplificar el ADN de un número ilimitado de muestras (Prugh, 2005; O'Reilly, 2008). Estas técnicas permiten hacer identificaciones con una precisión de más de 90%, gracias a la presencia de marcadores genéticos únicos para cada especie, logrando identificar hasta nivel de individuo. Para que se haga la amplificación de ADN se requiere de la presencia de un iniciador o *primer*, que es un oligonucleótido con ± 20 pares de bases, necesario para que la ADN polimerasa comience a añadir nucleótidos por el extremo 3' OH (Karp, 1998). Los *primers* se pueden diseñar para que escindan fragmentos únicos para cada especie, por lo que se reduce la posibilidad de identificaciones erróneas. El uso de todos los *primers* en un solo tubo de PCR dará como resultado fragmentos de ADN de diferente tamaño, dependiendo de la especie de la que es originada la muestra, posteriormente se puede observar el patrón de bandeo del material genético mediante la electroforesis en geles de agarosa. Si se desea mejorar el poder de detección, durante la amplificación de las muestras se puede incorporar una marca radiactiva a las sondas de ADN para que se hibriden con los fragmentos deseados. Para ello, se utilizan las propiedades que tienen algunos elementos como el fósforo en su forma radiactiva (^{32}P), el cual posee partículas tipo β que tienen una emisión de energía muy fuerte (Green *et al.*, 1997; Alberts *et al.*, 2002; Current Protocols in Mol. Biol, 2009), y posee características de detección superiores a otros elementos usados en ensayos biológicos (Meisenhelder, 2007).

1. 2 Materiales y métodos

1.2.1 Extracción y amplificación de ADN para comprobar la identidad del depredador

Se consiguió una muestra de sangre de un puma procedente del cautiverio y se procedió a extraer el ADN a partir del QIAamp DNA Mini Kit® de la siguiente manera:

1. En un tubo de microcentrífuga se pusieron 20 µl de proteinasa K, se pusieron 200 µg de muestra y 200 µl de buffer AL, se mezcló durante 15 segundos y se incubó a 56° C por 10 minutos.
2. Se añadieron 200 µl de etanol a 96 °, se mezclaron y se aplicó cuidadosamente el lisado en un tubo de columna y se centrifugó 1 minuto a 8000 rpm.
3. Se pasó el tubo de columna a uno de colecta y se añadió al primero 500 µl de buffer AW1 y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto.
4. Se colocó en otro tubo de colecta y se añadieron 500 µl de buffer AW2 y se centrifugó a 13200 rpm por 3 minutos.
5. Se puso el tubo de columna en otro tubo de colecta y se centrifugó a 13200 rpm por 1 minuto. Se colocó el tubo de columna en otro tubo y se añadieron 100 µl de buffer AE.
6. Se dejó reposar a temperatura ambiente por 1 minuto y se centrifugó a 8000 rpm por 1 minuto.
7. Se guardó este sobrante en un tubo y posteriormente en congelación para preservar el ADN.
8. Se hizo un gel de agarosa al 0.8% para correr esta muestra y observar las bandas de ADN de puma.

Se consiguió también una muestra de sangre de jaguar procedente del cautiverio y se trabajó para la extracción de ADN de acuerdo a las indicaciones anteriores realizadas con la sangre de puma. También se hizo un gel de agarosa al 0.8% para observar las bandas de ADN extraídas.

Se emplearon los *primers* y los métodos desarrollados por Farrell *et al.* (2002) para amplificar las muestras y corroborar su procedencia. Para ello, se centrifugaron los *primers* durante 6 segundos y se agregaron 500 µl de agua bidestilada para homogeneizar las muestras. Se tomaron 50 µl y se colocaron en un tubo de 0.5 ml, a partir de estos 50 µl se hicieron las diluciones de cada primer (ver anexo).

Se cuantificó el ADN extraído de sangre de puma y se hicieron 6 diluciones (1/10) consecutivas para determinar la sensibilidad de la PCR para detectar el ADN, para ello se hizo 1 gel de agarosa al 0.8% hasta poder observar una banda de ADN, también en el mismo gel se puso ADN de sangre de puma o jaguar como un control positivo.

Se hizo una PCR para amplificar las muestras colectadas en campo a partir de los *primers* solicitados, para ello se hizo la siguiente operación:

1) En un microtubo para PCR se pusieron 45 µl de supermix, 2 µl de oligo FLPu-R, 2 µl de oligo FLPu-F y 2 µl de cada muestra.

2) Se hizo otra PCR usando los 45 µl de supermix, 2 µl de oligo L14841, 2 µl de oligo H15149 y 2 µl de cada muestra.

3) Se hizo PCR usando 45 µl de supermix, 2 µl de oligo H15149, 2 µl de oligo Puma C1 y 2 µl de cada muestra.

4) Se hizo PCR usando 45 µl de supermix, 2 µl de oligo Puma C2, 2 µl de oligo H1478 y 2 µl de cada muestra.

5) Por último se hizo PCR usando 45µl de supermix, 2 µl de oligo L15926, 2 µl de oligo L16007, 2 µl de oligo H00651 y 2 µl de cada muestra.

6) Se corrieron geles de agarosa con 1% de concentración para ver los productos de la PCR y ver con cuáles amplificaban las muestras.

7) En el Instituto de Biotecnología de la UNAM se elaboró una PCR para marcar con radiactividad las tres membranas anteriores.

8) En condiciones de esterilidad y con equipo de seguridad para aislar radiactividad se hicieron los siguientes pasos:

9) En unos tubos para PCR estériles se mezclaron 45 µl de supermix®, 2 µl de primer FLPu-R, 2 µl de primer FLPu-F, 2 µl de ADN de puma o jaguar y 2 µl de ³²P. Se pusieron en el termociclador con el programa puma y se dejó correr.

10) Posteriormente, en un tubo de vidrio se colocaron las membranas de puma y se les pusieron 15 ml de solución de Denhardt y los productos de la PCR con ADN de puma. En otro tubo se hizo lo mismo para la membrana de jaguar con el producto de PCR de jaguar y se colocaron los tubos en un horno de agitación a 36° C. Se dejaron 24 hrs y posteriormente se colocaron las membranas en papel desecante y en una bolsa aislante de material radiactivo.

11) En el Laboratorio de Microbiología Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM se hizo el revelado de la membrana en placas radiográficas, cuyo procedimiento se explicó anteriormente, pero ahora extremando precauciones para no contaminar los objetos con material radiactivo y desechando en contenedores especiales el material que tuvo contacto con la membrana.

1. 2.2 Hibridación de las muestras de ADN con membrana de nylon

Se preparó una solución en la que se sumergió la membrana de nylon para preparar el medio adecuado que favorezca la hibridación del ADN con las muestras objetivo.

Solución de prehibridación:

- SSC 5X (10 ml)
- Solución Denhardt 5X (2 ml)
- 1% SDS (4 ml)

Se metió la membrana en una bolsa de plástico y se le añadieron 15 ml de la solución de prehibridación. Se cerró perfectamente para evitar fugas y se quedó durante 18 hrs (toda la noche) en baño maría a 60 °C.

Solución de hibridación:

- SSC (5 ml)
- SDS (2.5 ml)
- 42.5 ml agua miliQ estéril

Se cortó una esquina de la bolsa y se añadieron 15 ml de la solución de hibridación para activar la hibridación de ADN de las muestras en la membrana. Se cerró bien para evitar fugas y se dejó en un agitador durante 10 minutos. El proceso se hizo por duplicado.

Se abrió una esquina de la bolsa y se añadió la sonda marcada con el ADN ya conocido de puma y 10 µl de esperma de salmón. Se metió a baño maría durante 20 minutos a 60 °C. Se retiró toda la solución de hibridación de la bolsa y se le añadió una nueva solución:

- SSC (10 ml)

- Solución de Denhardt (2 ml)
- SDS (4 ml)
- Agua miliQ estéril (24 ml)

Posteriormente se colocó la membrana en 10 ml de solución para su revelado (SSC 2X).

1.2.3 Revelado con autorradiografía

Para el proceso de revelado se utilizó un cuarto oscuro para evitar que se “vele” la placa radiográfica. Dentro de un cassette de revelado se colocó una hoja de acetato, encima una placa radiográfica y posteriormente la membrana con el lado donde se trabajaron las muestras haciendo contacto con la placa, y por último otro acetato.

Se dejó por 3 minutos que se transmitiera la muestra de la membrana hacia la placa radiográfica y se despejó tratando de no romper la membrana y los acetatos. La placa se sumergió en una charola con solución reveladora (Kodak®) durante 30 segundos, inmediatamente se pasó a otra charola con solución fijadora (Kodak®) durante 30 segundos y de inmediato se enjuagó la placa con agua corriente, durante 15 segundos.

Para observar las manchas que quedaron en la placa se hizo a contraluz o con la ayuda de una pantalla con luz blanca. El proceso se hizo por triplicado.

1.2.4 Hibridación de muestras de ADN con dot blotting – radioisótopo de fósforo (³²P)

Se humedeció la membrana en una solución de SSC 2X (15 ml) agitando durante 10 minutos dentro de un recipiente.

Posteriormente se colocó la membrana en la cámara de dot blot (BioRad®) de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se cerró bien y se conectó la manguera de salida con el dispositivo de la bomba de vacío conectada a su vez a un matraz con tapón horadado y con una de sus salientes conectada hacia la cámara. Las muestras se llenaron en los pozos de la cámara de la siguiente manera:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		1		7		13		19		25	26	
C			2		8		14		20	27	28	
D		3		9		15		21			X1	
E			4		10		16		22		X2	
F		5		11		17		23			X3	
G			6		12		18		24		X4	
H												

Se agregaron 100 µl de solución 1 de hibridación (ver Anexo 1) a cada pozo para estandarizar la cantidad de muestra. Se conectó la cámara con la bomba de vacío y se activó el sistema, ya que pasaron todas las muestras a través de los pozos se apagó la bomba y se retiró la membrana de la cámara. Se introdujo en un horno de luz UV para favorecer la hibridación con los puentes de Timina del ADN y se puso en operación por 2 ocasiones. Posteriormente se dejó secar en un papel secante a temperatura ambiente.

Se prepararon más muestras para una nueva membrana, empleando controles de jaguar y puma elaborados en diferentes diluciones:

1. 30 µL de ADN puro de puma (1:1).
2. 30 µL de ADN puro de puma + 30 µL de agua miliQ estéril (1:2).
3. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:4).
4. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:8).
5. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:16).
6. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:32).
7. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:64).
8. 30 µL de la solución anterior + 30 µL de agua miliQ estéril (1:128).

Se les agregaron 4 µL de NaOH 0.4 M y 2 µL de EDTA 0.5 M, 44 µL de solución SSC 2X. Se hizo lo mismo con los tubos con el ADN extraído de las muestras y posteriormente se colocaron todos en baño maría durante 10 minutos a 100 °C.

Posteriormente, se humedeció la membrana en 20 ml de solución SSC 2X. Se hizo la siguiente disposición de muestras (se hicieron 2 repeticiones de controles y de muestras problema):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		1P				4		4		8	8	
C			2P		3		5		4		7	
D		3P		2		6		3		1	6	
E			4P		1		7		6		5	
F		5P		7P		8		2		2	4	
G			6P		8P		1		7		3	
H												

P = muestra control de puma.

Se les agregaron 100 μ L de SSC 2X a cada pozo y se repitieron los pasos que se hicieron con la membrana anterior, hasta que queda la membrana en el papel secante.

Se preparó otra membrana para verificar las muestras que habían podido contener ADN de jaguar, para ello se siguió el mismo procedimiento que se hizo con la membrana anterior, pero en lugar de usar ADN de puma como control se empleó el de jaguar como control positivo.

Se hizo el mismo proceso de humedecimiento con la membrana para ponerla en la cámara de dot blot y se llenaron las muestras de la siguiente manera:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		1J		7J		10		17		27		
C			2J		8J		12		18		X2	
D		3J		5		14		21		X3		
E			4J		6		13		22		X4	
F		5J		7		15		23				
G			6J		8	16			26			
H												

J = muestra control de jaguar.

2. 1 RESULTADOS

2.1.1 Identificación del depredador que dio origen a cada muestra de excreta

De una muestra de sangre de puma, se le hizo extracción de ADN utilizando el principio del fenol – cloroformo (Sambrook, 2001), y se corrió un gel de electroforesis para visualizar la banda de ADN obtenida.

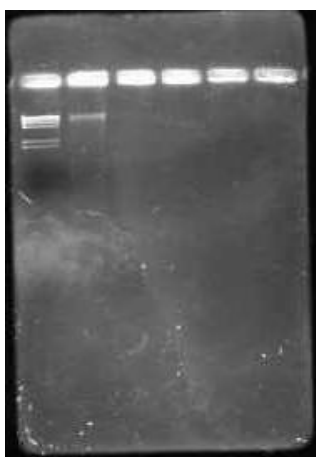


Figura 2. Izquierda a derecha: marcador λ – Hind III, ADN de puma.

Se le hizo extracción de ADN a una muestra de tejido cardiaco de un jaguar el cual se mantenía en conservación desde hace tres años, posteriormente en el gel de electroforesis se visualizó una banda de ADN. (Figura 2).

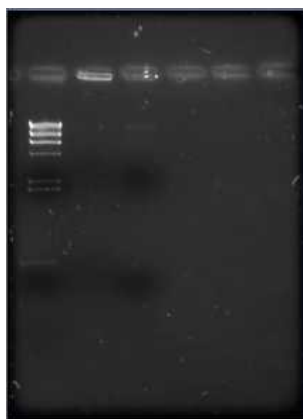


Figura 3. De izquierda a derecha: Marcador λ – Hind III, ADN de jaguar.

Con el método de extracción de ADN utilizando solución de lisis (Tiocianato de guanidina) y cloroformo – alcohol isoamílico se obtuvieron otras bandas visibles en los geles de agarosa al 0.8% (Figuras 3 y Figura 4).

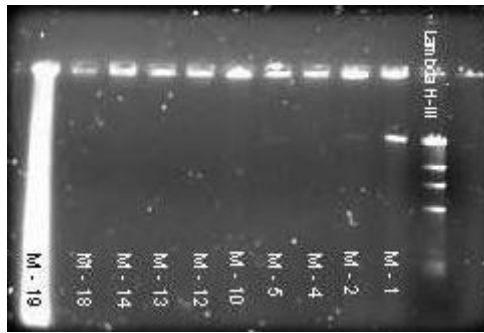


Figura 4. Derecha a izquierda: marcador λ – HindIII, 1, 2, 4, 5, 10, 12, 13, 14, 18, 19.

Las muestras 22, x3 y x4 expresaron bandas de ADN débilmente, mientras que la muestra 26 fue la que presentó la banda más conspicua (Figura 5).

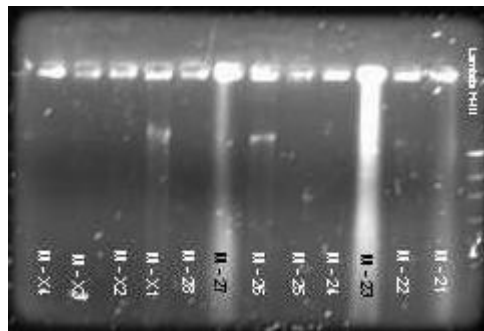
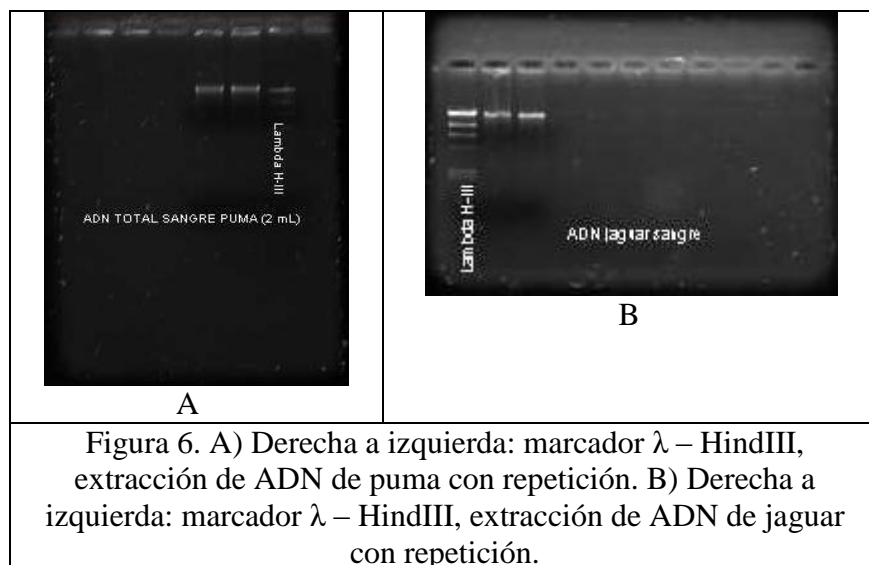


Figura 5. Derecha a izquierda: marcador λ – HindIII, 21, 22, 23, 24, 25, 27, 28, x1, x2, x3, x4.

Se hizo extracción de ADN de sangre fresca de puma, de acuerdo a las instrucciones del kit de extracción (QIAamp DNA Mini Kit ®), y en el gel que se corrió se observó la banda deseada (Figura 6A).



Se hizo el mismo procedimiento de extracción del kit con sangre fresca de jaguar, y se observó en el gel la banda (Figura 6B). En ambas especies se logró extraer exitosamente el material genético que sirvió como referencia para el resto de las pruebas.

Se cuantificó en un espectrofotómetro la cantidad de ADN de las extracciones de jaguar y puma, y para tener un comparativo con otro carnívoro que no fuera felino (como control negativo) se hizo también una cuantificación con ADN extraído de sangre de perro. Los resultados fueron:

Puma: 0.1610 $\mu\text{g/ml}$, jaguar: 0.2072 $\mu\text{g/ml}$, perro: 0.0305 $\mu\text{g/ml}$.

Después se hizo la PCR con los *primers* empleados por Culver *et al.*, (2002) para las tres especies y se observaron las bandas de ADN en el gel a 1.5% de concentración (Figura 7).

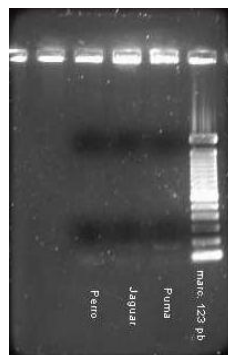


Figura 7. Derecha a izquierda: marcador 123 pb, ADN puma, ADN jaguar, ADN perro.

Se hicieron 6 diluciones (1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32) con muestra de ADN de puma y agua inyectable para determinar el poder de detección de la PCR con diferentes concentraciones de ADN.

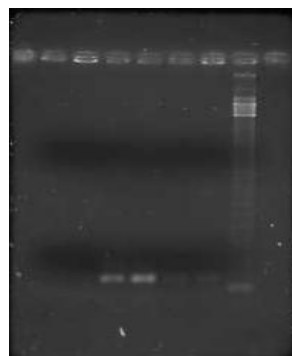


Figura 8. Derecha a izquierda: marcador 123 pb, ADN puma, ADN jaguar, ADN perro.

Como se observaron bandas en la tercera y cuarta dilución (Figura 8) se hizo nuevamente un gel tomando sólo las primeras cuatro diluciones.

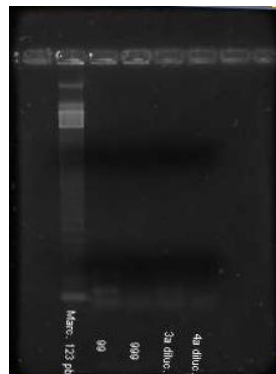


Figura 9. Izquierda a derecha: marcador 123 pb, ($1/1$, $1/2$, $1/4$, $1/8$)

En el gel se observa teñida la banda de ADN de la primera dilución con mayor intensidad que las demás, para la segunda y tercera dilución se percibe todavía la banda, pero en la cuarta se observa ya muy disminuida (Figura 9).

Con la PCR de los *primers* FLPu-R, FLPu-F y las muestras 1, 2, 5, 6, 7 y 9 se obtuvo el siguiente gel de agarosa al 1.5%:

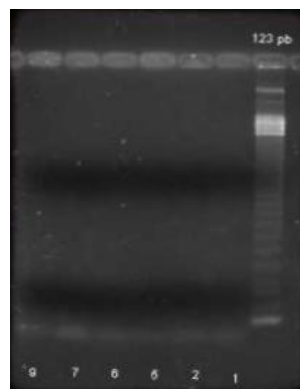


Figura 10. Izquierda a derecha: marcador 123 pb, ($1/1$, $1/2$, $1/4$, $1/8$).

En todas las muestras se alcanzan a ver las bandas de ADN, pero teñidas ligeramente. La muestra 9 tiene la banda un poco más arriba que las demás, entonces fue necesario repetir el gel para verificar que no hubiera habido algún movimiento durante la electroforesis que desviara la banda más arriba de lo esperado (Figura 10). Posteriormente se contaron las cantidades de ADN de cada muestra:

Cuadro 2. Concentración de ADN en las muestras colectadas.

Muestra	Concentración (µg/ml)	Muestra	Concentración (µg/ml)
1	2.3496	2	12.9060
3	0.2263	4	0.8457
5	3.4308	6	4.6219
7	3.0508	8	0.3144
9	2.8386	10	0.7987
11	0.5047	12	1.4122
13	2.2861	14	1.5032
15	1.0713	16	1.5071
17	2.2723	18	1.2997
19	0.0045	20	0.9463
21	4.9066	22	1.8322
23	2.1725	24	1.0242
25	1.6328	26	0.2856
27	3.2691	28	4.1879
X1	1.8039	X2	0.9138
X3	1.1301	X4	0.7240

La PCR donde sólo se usó la muestra 7 y un control positivo con ADN de puma dio el siguiente resultado en el gel de agarosa al 1.5% (Figura 11). Los *primers* usados fueron el FLPu-R y FLPu-F:

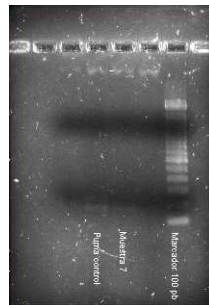


Figura 11. Derecha a izquierda: marcador 100 pb, muestra 7, ADN puma (control).

Para la PCR de las muestras 1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 14 y 16 se usaron los *primers* L14841 y H15149 y controles positivos de jaguar y puma. Se corrió en gel de agarosa al 1.5%:

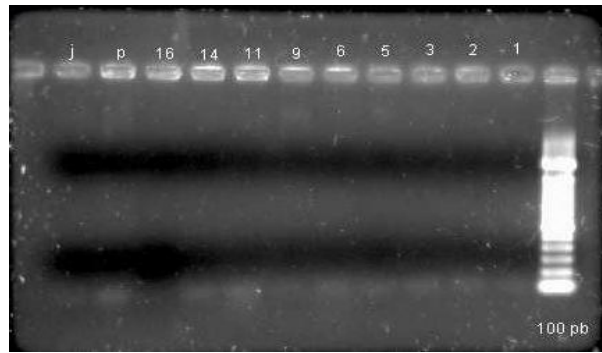


Figura 12. Derecha a izquierda: marcador 100 pb, muestras 1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 14, 16, ADN puma, ADN jaguar (controles).

En la Figura 12 se pueden observar en todas las muestras (excepto la 16) las bandas de ADN, no se presentan a la misma altura porque después de la muestra 14 hacia la izquierda se corrieron ligeramente hacia abajo los controles, la 24 y 16.

Para la PCR donde se usaron los *primers* L15926, L16007 Y H00651 se obtuvo el siguiente gel:

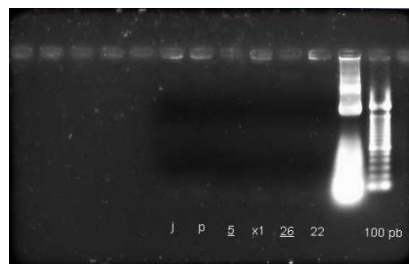


Figura 13. Derecha a izquierda: marcador 100 pb, muestras 20 (sin etiqueta), 22, 26, x1, ADN puma, ADN jaguar (controles).

Se hicieron varias combinaciones con los *primers* que han empleado Culver *et al.*, (2002) y Kocher *et al.*, (1989) para ver con cuáles se podían amplificar mejor las muestras, los que dieron mejores resultados fueron el FLPu-R, FLPu-F (Figura 13) y en el siguiente gel se puede ver cada banda de ADN para las muestras 1 y 9 con el marcador 123 pb y un control positivo de puma, por lo que se comprobó que estas muestras pertenecen a puma.

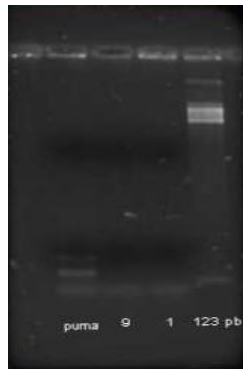


Figura 14. Derecha a izquierda: marcador 123 pb, muestras 1, 9, ADN puma, (control).

Se hizo una PCR de los productos anteriores de las muestras 1 y 9 para reamplificarlos, usando los mismos *primers* y se distinguieron nuevamente las bandas de ADN (Figura 14).

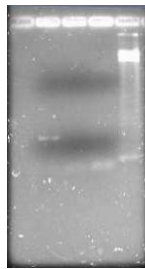


Figura 15. Derecha a izquierda: 1er carril marcador 123 pb, 2º carril muestra 1, 3er carril muestra 9, 4º carril ADN puma, (control).

En el carril del control de puma se observó una banda de ADN más arriba de lo que habían estado saliendo en los geles anteriores (Figura 15).

Se hizo una PCR con los *primers* FLPu-F, FLPu-R y las muestras 3, 9 y 13, las cuales se pueden ver un poco tenues las bandas de ADN de acuerdo a lo observado en el siguiente gel:

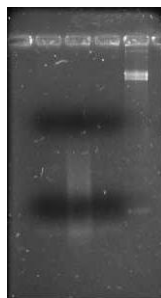


Figura 16. Derecha a izquierda: 1er carril marcador 123 pb, 2º carril muestra 3, 3er carril muestra 9, 4º carril muestra 13.

Se observan en las tres muestras la presencia de bandas de ADN, sobre todo la 9 salió teñida con mayor intensidad (Figura 16), pero como no se introdujo un control para comparar se repitió el gel con las mismas muestras. Se hizo una reamplificación para corroborar que sí se hubieran extraído bien los ADN de cada muestra pero en ese gel ya no se expresaron las bandas.

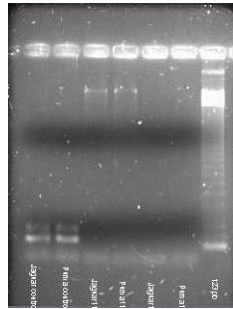


Figura 17. Derecha a izquierda: 1er carril marcador 123 pb, muestra 1 con ADN puma, muestra 1 con ADN jaguar, muestra 11 con ADN puma, muestra 11 con ADN jaguar, ADN puma y ADN jaguar. 13.

Se hizo una prueba con tres tubos donde se puso una PCR que incluyera ADN de puma en las muestras y observar si había un inhibidor que estuviera bloqueando la PCR. Se observa que solamente tiñen restos de primer de la muestra, mientras que en los controles se observan las bandas de ADN teñidas con intensidad (Figura 17), por lo tanto se comprobó que las muestras contenían inhibidores de la polimerasa.

2.1. 2 Hibridación con extracciones de ADN marcadas con fósforo radiactivo

En la placa revelada de la membrana de dot blot con las muestras de ADN de jaguar se pudo observar que se lograron hibridar las muestras 8, 10, 18, 26 y x1 para jaguar, solamente se alcanzó a ver una mancha de los 8 controles que había de ADN de jaguar (Figura 18).

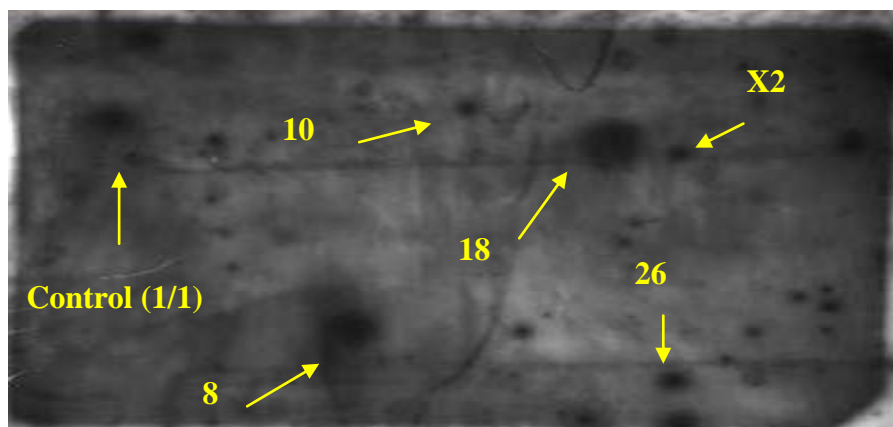


Figura 18. Placa radiográfica – ADN JAGUAR hibridado con ³²P.

En la placa de la membrana para puma se alcanzan a ver más muestras hibridadas que con la de jaguar, incluso son más evidentes las manchas remanentes, en este caso no se usaron controles positivos. Las muestras que se lograron expresar con esta técnica fueron: 2, 3, 4, 11, 20, 24, 25 y 28 (Figuras 19 y 20).

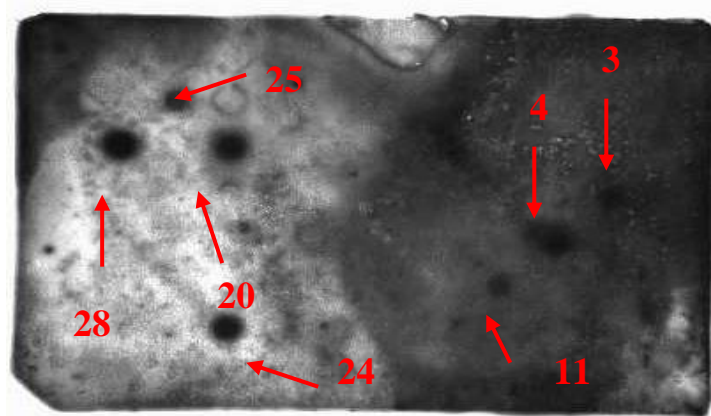


Figura 19. Placa radiográfica – ADN PUMA hibridado con ^{32}P .

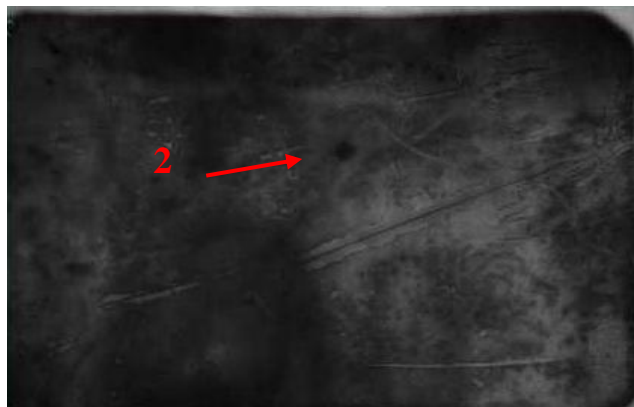
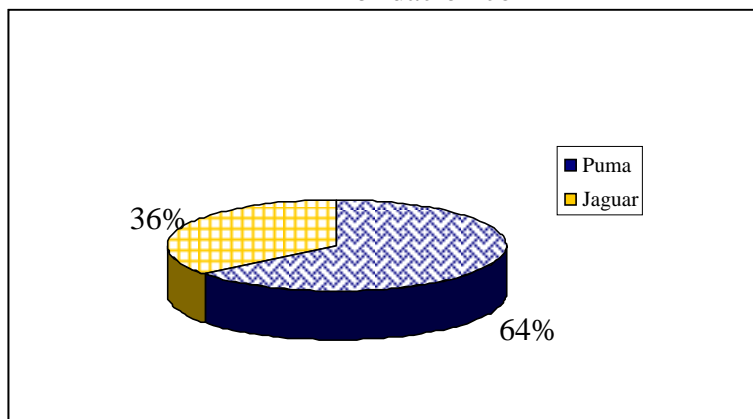


Figura 20. Placa radiográfica – ADN PUMA hibridado con ^{32}P .

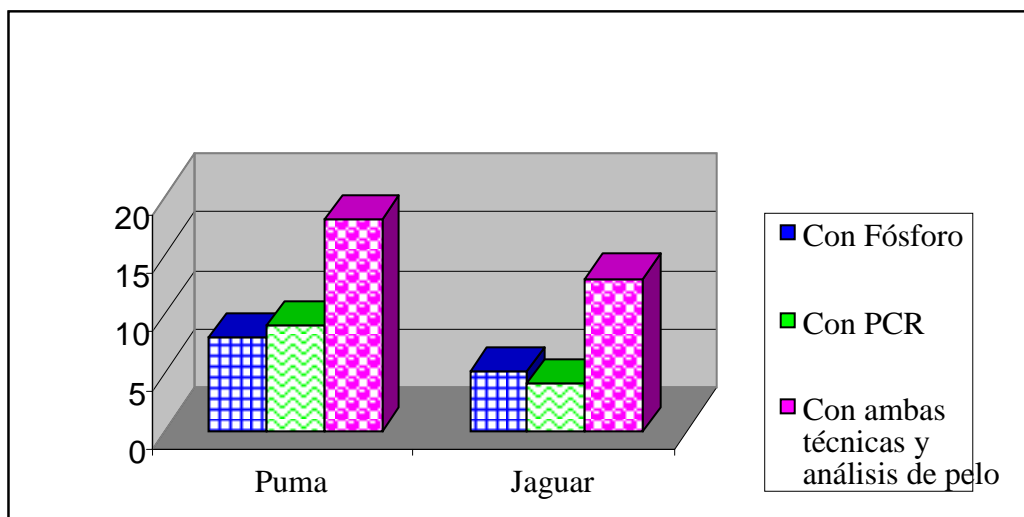
En la gráfica 1 tenemos una representación del porcentaje de muestras que se lograron identificar solamente con extracción y amplificación e hibridación de ADN con fósforo radiactivo. Se identificaron más excretas de puma que de jaguar con las dos técnicas.

Gráfica 1. Porcentaje de muestras identificadas con éxito mediante PCR e hibridación con ^{32}P

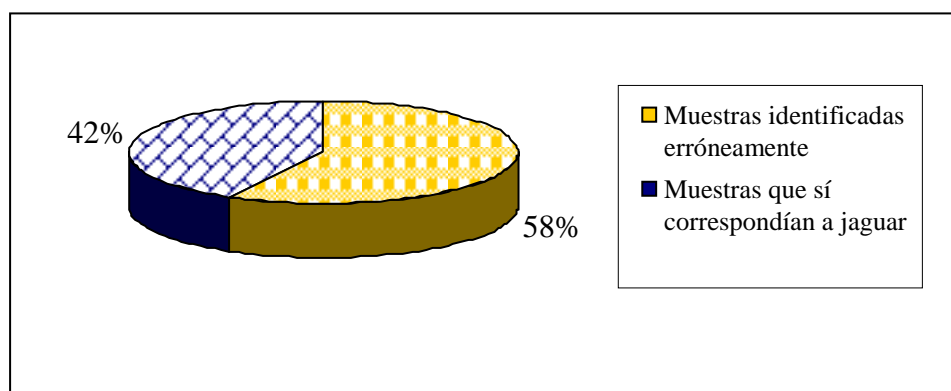


Al comparar por tipo de técnica, tuvo mejor poder de detección la hibridación con ^{32}P para las muestras de jaguar que para puma (Gráfica 2).

Gráfica 2. Comparación del número de muestras que fueron identificadas con técnicas moleculares y análisis de pelo



Gráfica 3. Porcentaje de muestras que fueron identificadas correcta e incorrectamente por los observadores de campo



Tal vez lo más notable en estos resultados sea que la mayoría de comunidad que nos auxilió en la colecta de las excretas, en realidad no parece tener la suficiente habilidad o pericia para identificar correctamente excretas de jaguar y puma (Gráfica 3), puesto que las manejan en forma indistinta, y en el caso de que se presenten eventos de depredación, en los cuales estén pumas o algún otro carnívoro involucrados, podrían “culpar” erróneamente al depredador y si deciden hacer control, en realidad no estarían resolviendo el problema y se continuaría perjudicando la ya de por sí crítica situación de las poblaciones de jaguar (Taber *et al.*, 1997).

3.1 DISCUSIÓN

Existen muchos riesgos de cometer errores al hacer identificaciones en el campo de rastros que pertenezcan a especies que tengan tamaños corporales similares, hábitos alimenticios similares y una distribución simpátrica (Haag *et al.*, 2009; Aranda, 1994; Rosas-Rosas *et al.*, 2003), como se pudo observar en los resultados más del 50 % de las excretas de puma fueron identificadas como de jaguar (Gráfica 3). La dificultad para diferenciar en el campo las excretas de este tipo de especies conlleva a buscar alternativas asociadas a las muestras, como huellas, rascaderas, rastros de depredación de algún animal, etc., pero no siempre se cuenta con esta información adicional, por lo que basar las identificaciones únicamente en la morfología externa de las excretas resulta muy cuestionable, sobre todo si el criterio para valorarlas está basado en datos empíricos del investigador. Prugh (2005) hizo un estudio para

comprobar la precisión de los observadores para identificar excretas de coyote, obtuvo éxito de identificación de más de 90%, pero si se hacen estudios sobre número de individuos en una zona es necesario que la precisión sea de 100% en lo posible. En virtud de que los riesgos de cometer errores de identificación de excretas son muy altos, en este trabajo nos enfocamos a identificar excretas de jaguar y puma por morfología externa y posteriormente corroborarla con la identidad genuina de los depredadores.

Farrell *et al.*, (2000) encontraron que 55% de las muestras que colectaron en campo, que en un principio creían que pertenecían a puma y jaguar, al practicarles el examen de ADN identificaron que provenían de ocelote, zorra y coyote. El mismo caso ocurrió con (Onorato *et al.*, 2006), quienes hicieron identificaciones de excretas de carnívoros en forma exitosa (79%) pero reportaron que hubo también identificaciones erróneas por confusión entre coyote y oso. Si se toma en cuenta que el oso y el puma permanecen cerca del sitio donde cazaron una presa, se espera que la deposición de heces esté compuesta en su mayoría por carne.

Long *et al.*, (2007) encontró que las excretas de los linces y coyotes fueron difíciles o imposibles de distinguir a primera vista sólo por morfología, reportado también que las excretas de mapache se asemejan mucho a las de oso.

En la primer parte de los resultados, se describió una extracción de ADN a partir de tejido cardiaco de jaguar y puma, obteniéndose en sus geles de agarosa bandas con poca intensidad (Figuras 1) o incluso ninguna (Figura 2). Estas extracciones se hicieron con los kits de QIAGEN, que ya están diseñados con los reactivos y cantidades necesarias para la extracción, pero los resultados no fueron satisfactorios posiblemente porque el tejido cardiaco tenía 3 años guardado en congelación y es posible que el material genético se haya degradado. En otras investigaciones donde se han hecho extracciones de ADN de piel, tejido y sangre de felinos, también no siempre han obtenido resultados de todas las extracciones (Eizirik, 2001; Scognamillo, 2003).

En los tres geles de la Figura 3 y el gel de la Figura 6 se observaron algunas bandas muy intensas de ARN, lo cual significa que la muestra estaba ya muy degradada o con materia orgánica de suelo, que comúnmente contiene enzimas e inhibidores que afectan la extracción de ADN (Taberlet, 1996). En especial la muestra 19 fue descartada por completo porque desde un principio se percibió que no se trataba de materia fecal sino de lodo, de cualquier modo se le hizo el método de extracción y se comprobó que se trataba de tierra (Figura 6),

pero las demás muestras que tuvieron el mismo resultado sí contenían restos de heces, por lo que se buscaron métodos alternativos para aislar el ADN de los contaminantes.

La solución de lisis a base de tiocianato de guanidina no resultó efectivo para la extracción y aislamiento, solamente en la muestra 1, lo cual sugirió que las muestras todavía presentaban una alta tasa de degradación e inhibidores.

Posteriormente se consiguieron muestras frescas de sangre de jaguar y puma, se utilizaron los kits de QIAGEN para las extracciones y se obtuvieron buenos resultados (Figura 8A y 8B). Como las muestras no tenían más de 1 semana, probablemente las células se preservaron bien favoreciendo la extracción de una buena cantidad de ADN en ambos casos, por lo que fue posible extraer casi 2 ml de ADN con una concentración de 0.161 µg/ml y 0.207 µg/ml para puma y jaguar, respectivamente.

Se emplearon los ADN de jaguar y puma con los oligos que Culver *et al.*, (2002) han ocupado para estudios sobre ecología y dinámica de poblaciones de pumas en Arizona, cuando se hizo la PCR se observaron los productos de la amplificación con una baja intensidad en los geles (Figura 9), por lo que se hicieron 6 diluciones para verificar la concentración mínima a la que se podía visualizar en un gel los productos de la PCR, resultando que hasta la dilución (1/8) fue posible ver una banda de ADN en el gel (Figura 10). Para comprobar este fenómeno se hizo nuevamente un gel de las primeras 4 diluciones y se pudo observar que conforme se disminuían las concentraciones disminuía también la intensidad de la banda de ADN (Figura 11).

Se midió la concentración de ADN de cada una de las muestras en un espectrofotómetro, el resultado indicaba que había una buena concentración de material genético, pero no se podía aseverar que perteneciera a jaguar o puma, puesto que también podía contener ADN de las presas o microorganismos del suelo. Por esta razón se buscaron otros *primers* que fueran específicos para jaguar y puma. Se emplearon los oligos FLPu-F y FLPu-R diseñados por Kocher *et al.*, (1989) y mejorados por Farrell *et al.*, (2000) y se obtuvieron mejores resultados en las visualizaciones de los productos de la PCR (Figura 12). Esos *primers* resultaron más convenientes para identificar exitosamente muestras muy degradadas de jaguar y puma, presumiblemente porque los oligos se unen a fragmentos del gene citocromo b del genoma mitocondrial, el *cytb* se ha reportado muy eficiente para reproducir millones de copias a partir de un molde de ADN formado por fragmentos pequeños. Posteriormente se puede hacer un dot blotting con marcador radiactivo para

diferenciar muestras de ambas especies. Empleamos al igual que Mills *et al.*, (2000) gen de ADN mitocondrial porque da un número de copias mayor que los microsatélites, debido a que el tamaño de los alelos limita los rangos interespecíficos del ADN microsatélite, potencialmente se conduciría a una transposición en la frecuencia alélica.

Se hizo el mismo procedimiento para las demás muestras y se obtuvieron bandas en la mayoría de ellas (Figura 13, 14 y 15), sin embargo, todavía quedaban algunas muestras que aunque habían salido con bandas de ADN, en los geles de la PCR no se visualizaban (Figura 16, 17 y 18).

Para verificar si las muestras podían expresar ADN de cualquiera de las dos especies pero por razones desconocidas no se estaba visualizando la banda al momento de hacer el gel, se mezcló ADN de puma y jaguar con las muestras donde se extrajo ADN, el resultado fue que las bandas esperadas no se estaban expresando al momento de hacer la PCR, por lo que se pudo comprobar que contenían ADNasas u otras enzimas que bloquean la reacción de la polimerasa (Figura 19).

Se intentó aislar el ADNmit de las muestras mediante la adición de bolitas de sílica, como este material tiene una propiedad higroscópica se pretendía que separara las moléculas que estaban inhibiendo el ADN buscado al iniciar la extracción (Green *et al.*, 1997; Bhagavatula, 2006), pero al momento de hacer el gel tampoco se obtuvo resultado con este método.

Por último, se intentó hacer extracción e hibridación de ADN con isótopos radiactivos, en este tipo de pruebas, el fósforo radiactivo ^{32}P , tiene un poder fuerte de señalización (Karp, 1998; Dale, 2002; Meisenhelder, 2007) y gracias a esta propiedad pudimos visualizar en las placas autorradiográficas 5 muestras de jaguar que hibridaron exitosamente y un control que estaba sin diluir (Figura 20). Para puma se hibridaron 8 muestras, incluso el poder de resolución de las manchas fue mejor y más evidente que para jaguar (Figuras 21 y 22). Este resultado sugiere que aunque no se visualizan bandas de ADN en el gel durante los primeros intentos de extracción y amplificación, no significa necesariamente que la muestra no lo contenga puesto que pueden estar presentes inhibidores, bacterias, enzimas y proteínas que bloqueen los reactivos y no permiten el desarrollo normal de la PCR (Kohn, *et al.*, 1999; Farrell, *et al.*, 2000; Culver *et al.*, 2000; Palomares, 2002; Ruell, 2006; Bidlack, 2007) y como el ^{32}P tiene una eficiencia muy alta para unirse a la muestra buscada hibridada con el ADN molde. De acuerdo a los resultados de este

experimento, la adición de una sonda radiactiva fue un mejor método para aislar y visualizar el ADN de la muestra problema (Irwin *et al.*, 1991).

Por otro lado, se ha sugerido el uso de trampas de pelo como un método no invasivo (Downey, 2006), pero Long *et al.*, (2007) hicieron un estudio en el que compararon este método junto con la obtención de excretas y en sus resultados reportaron que este método no es muy efectivo para detectar la presencia de la especie objetivo.

Se recomienda mesura al momento de basar las identificaciones únicamente en la morfología externa de la excreta, puesto que encontramos que algunos de los guías de campo no tuvieron la capacidad para identificar con precisión entre excretas de puma y jaguar, Prugh *et al.*, (2005) hicieron un estudio en el que corroboraron la precisión de 4 observadores de campo con diferentes años de experiencia para identificar muestras de coyote, zorra y comadreja. Los cuatro tuvieron más de 90% de precisión para señalar al depredador, sin embargo, para el jaguar y el puma representa un desafío más grande puesto que en muchas zonas donde comparten el hábitat su base de dieta es muy similar (Rabinowitz, 1986; Aranda, 1994; Núñez *et al.*, 2000, Novack *et al.*, 2005; Ruiz, 2006; Rosas-Rosas *et al.*, 2008).

Cuando se realicen estudios de dieta con excretas colectadas en el campo, con técnicas moleculares se ha sugerido que no se realice una sola PCR para obtener resultados de genotipificación confiables (Taberlet, 1996), además de procurar de coleccionar las muestras lo más fresco posible y mantenerlas a una temperatura cercana a los -70 °C para preservar su material genético por periodos prolongados (Bhagavatula, 2006).

No es muy recomendable el uso de pelos para identificar especies porque se requiere que éstos contengan el folículo piloso y muchas veces si se obtiene el pelo a partir de excretas al momento de lavar la muestra y separar los componentes los cabellos se maltratan y lo pierden. Más bien se aconseja el uso de pelos para identificar las posibles presas que haya consumido el depredador (Konecny, 1989; Rosas-Rosas *et al.*, 2003; 2008). Ruell (2006) quien hizo un estudio sobre densidad, dispersión y estructura genética en lince a partir de excretas y pelo, tuvo un éxito de genotipificación bajo, y las causas las atribuyó a que la estructura de los felinos es muy fina y podría contener menos ADN que otras especies con pelo más grueso, mientras que para las excretas tuvo mejor éxito.

El diseño de un oligo específico para jaguar, que permita identificar con exactitud los marcadores genéticos de ADN sólo para esta especie, podrá facilitar la discriminación de muestras que provengan de puma cuando se haga una reacción de PCR y no se tenga que

hacer una hibridación con material radiactivo, y actualmente se ha estado evitando el uso de esta técnica para no poner en riesgo la salud de los investigadores y la generación de desechos que requieren un tratamiento especial de eliminación (Meisenhelder, 2007).

4. 1 Conclusiones

Se comprobó que las técnicas moleculares son una herramienta útil para la identificación de excretas y que ha tomado importancia en los últimos años gracias a que sus costos de operación han disminuido. La utilización de ^{32}P (fósforo radiactivo) para marcar muestras con ADN de difícil extracción resultó con un éxito de 50%; sin embargo, tomando en cuenta que en condiciones ambientales extremas a las que estuvieron expuestas las muestras, como lluvias torrenciales, temperaturas cercanas a los 40 °C o más bajo el sol, desecación, radiación UV, contaminantes y demás sustancias inhibidoras de la PCR, el número de muestras que se identificaron para ambas especies fue muy satisfactorio.

Si los criterios de identificación basados en morfología tiene ciertas restricciones cuando no hay señales asociadas, los métodos moleculares basados en secuencias de ADN han mostrado una identificación exitosa, constituyendo una alternativa confiable a los métodos tradicionales.

5. 1 LITERATURA CITADA

- Alberts, B. A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. 2002. Garland Science. New York, USA. 1463 pp.
- Aranda, M. 1994. Diferenciación entre las huellas de jaguar y puma: un análisis de criterios. *Acta Zoológica Mexicana* 63: 75-78.
- Ausubel, F. M. 2009. Current Protocols in Molecular Biology. Biophysical labeling methods in molecular biology. Appendix 1. John Wiley & Sons, Inc.
- Bhagavatula, J. y L. Singh. 2006. Genotyping faecal samples of Bengal tiger *Panthera tigris tigris* for population estimation: A pilot study. *BMC Genetics* 7: 1-12.
- Bidlack, A., S. E. Reed y P. Palsboll. 2007. Characterization of a western North American carnivore community using PCR-RFLP of cytochrome b obtained from fecal samples. *Conserv Genet*.
- Culver, M., W. E. Johnson, J. Pecon-Slattery y S. J. O'Brien. 2000. Genomic ancestry of the American puma (*Puma concolor*). *Journal of Heredity* 91:186-197.

- Downey, P., E. H., A. Caso, S. Carvajal y K. Frangioso. 2007. Hair snares for noninvasive sampling of felids in North America: do gray foxes affect success? *Journal of Wildlife Management* 71: 2090-2094.
- Eizirik, E., J. H. K., M. Menotti-R, P.G. Crawshaw Jr., S.J. O'Brien y W.E. Johnson. 2001. Phylogeography, pupulation history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). *Molecular Ecology* 10: 65-79.
- Farrell, L., J. Roman y M. Sunquist. 2000. Dietary separation of sympatric carnivores identified by molecular analysis of scats. *Molecular Ecology* 9: 1583-1590.
- Green, E., B. Birren, S. Klapholz, R. Myers y P. Hieter. 1997. *Genome Analysis, A Laboratory Manual*. Vol 1. Analyzing DNA. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Hagg, T., A. S. S., C. De Angelo, A.C. Srбек, D.A. Sana, R.G. Morato, F.M. Salzano y E. Eizirik. 2009. Development and testing of an optimized method for DNA-based identification of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) fecal samples for use in ecological and genetic studies. *Genetica*.
- Irwin, D., T. Kocher y A. C. Wilson. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. 1991. *Journal of Molecular Evolution*. 32: 128-144.
- Karp G. 1998. *Biología Celular y Molecular*. McGraw Hill Interamericana. México. 746 pp.
- Kocher T., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Pääbo y F.X. Villablanca. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci* 86: 6196-6200.
- Kohn, M., E. York, D. Kamradt, G. Haught, R. Sauvajot y R. Wayne. 1999. Estimating population size by genotyping faeces *The Royal Society* 266: 657-663.
- Konecny, M. J. 1989. Movement Patterns and Food Habits of Four Sympatric Carnivore Species in Belize, Central America. *Advances in Neotropical Mammalogy*. 243-264 pp.
- Long, R., T. Donovan, P. Mackay, W. Zielinski y J. Buzas. 2007. Effectiveness of scat detection dogs for detecting forest carnivores. *Journal of Wildlife Management* 71: 2007-2017.
- Meisenhelder, J. y S. Bursik. 2007. Safe use of radioisotopes. In: *Current Protocols in Molecular Biology*. Appendix 1F. John Wiley & Sons, Inc. NY, USA.
- Mills, L., K. Pilgrim, M. Schwartz y K. Mckelvey. 2001. Identifying lynx and other North American felids based on mtDNA analysis. *Conserv Genet* 1: 285-288.
- Novack, A. J., M. Main, M. Sunquist y R. Labisky. 2005. Foraging ecology of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in hunted and non-hunted sites within the Maya Biosphere Reserve, Guatemala. *Journal of Zoology* 267: 167-178.

- Núñez, R., B. Miller y F. Lindzey. 2000. Food habits of jaguars and pumas in Jalisco, Mexico. *Journal of Zoology* 252: 373-379.
- Onorato, D., C. White, P. Zager y L. Waits. 2006. Detection of predator presence at elk mortality sites using mtDNA analysis of hair and scat samples. *Wildlife Society Bulletin* 34: 815-820.
- O'Reilly, C., M. Statham, J. Mullins, D.D. Turner y D. O'Mahony. 2008. Efficient species identification of pine marten (*Martes martes*) and red fox (*Vulpes vulpes*) scats using a 5' nuclease real-time PCR assay. *Conserv Genet* 9 (3): 735-738.
- Prugh, L.R., C. R. 2005. Molecular testing of observer identification of carnivore feces in the field. *Wildlife Society Bulletin* 33: 189-194.
- Rabinowitz, A. 1986. Jaguar predation on domestic livestock in Belize. *Wildlife Society Bulletin* 14: 170-174.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez, L.C. Bender y D. Daniel. 2003. Food habits of pumas in northwestern Sonora, Mexico. *Wildlife Society Bulletin* 31: 528-535.
- Rosas-Rosas O., R. Valdez y L.C. Bender. 2008. Jaguar and puma predation on cattle calves in Northeastern Sonora, Mexico. *Rangeland Ecology & Management*. 61.
- Ruell E, K. C. 2006. Evaluation of noninvasive genetic sampling methods for felid and canid populations. *Journal of Wildlife Management* 71: 1690-1693.
- Ruiz, M., E. Payán, A. Murillo y D. Álvarez. 2006. DNA microsatellite characterization of the jaguar (*Panthera onca*) in Colombia. *Genes Genet Syst* 81: 115-127.
- Sambrook, J., y D. W. Russell. 2001. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 3^d ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. NY, USA. Vol 3. Protocols. Unit 10.
- Scognamillo, D. I. E. M., M. Sunquist y J. Polisar. 2003. Coexistence of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in a mosaic landscape in the Venezuelan llanos. *Journal of Zoology* 259: 269-279.
- Taber A B, A. J. N. Neris y F.H. Colman. 1997. The Food Habits of Sympatric Jaguar and Puma in the Paraguayan Chaco. *Biotropica*, 29, 204-213.
- Taberlet, P., S Griffin, B Goossens, S Questiau, V Manceau, N Escaravage, L Waits, J Bouvet. 1996. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research* 24: 3189-3194.

CAPÍTULO II ANÁLISIS DE LA DIETA DEL JAGUAR Y PUMA

2. 1 Introducción

La distribución del jaguar abarca desde Campeche, Chiapas, Yucatán y Quintana Roo en el sureste de México hasta los Estados de Jalisco, Nayarit, Michoacán, Sinaloa y Sonora por la costa oeste y hacia Querétaro, San Luis Potosí, Nuevo León, Tamaulipas y el Estado de México (Monroy, 2008). El puma es el segundo felino de mayor talla en América, junto con el jaguar, presentándose algunas zonas de distribución en las que cohabitan simpátricamente (Valdez *et al.*, 2002; Sanderson *et al.*, 2002).

Las poblaciones de jaguar se han visto amenazadas por el impacto del hombre, por ejemplo, se han fragmentado sus hábitats debido a la agricultura, la tala inmoderada, la cacería furtiva y el incremento de la ganadería. Además, el control no regulado de los grandes carnívoros es común en algunas áreas debido a la depredación sobre el ganado doméstico (Leopold, 2000; NOM – 059 – SEMARNAT, 2001, CITES, IUCN).

Para poder hacer una estimación de la calidad del hábitat del jaguar, se tendrían que determinar sus hábitos alimenticios y la importancia de las especies silvestres en su dieta, ya que, a pesar de que el hábitat y las presas del jaguar pudieran parecer adecuados, es posible que la falta de una base de presas tradicional suficiente y diversa pueda provocar depredación sobre el ganado doméstico (Rosas-Rosas *et al.*, 2008). Las comunidades humanas que se han asentado en áreas que forman parte del hábitat del jaguar, han provocado involuntariamente, una competencia directa por los recursos: espacio, presas como venado cola blanca y temazate, pecarí de collar, tejón y armadillo, además del eventual conflicto entre estos felinos y el ganado doméstico.

2.2 Materiales y métodos

2. 2. 1 Colecta de muestras

Las excretas de jaguar y puma se colectaron durante mayo 2007 y mayo 2008 en el Municipio de Tamasopo mediante recorridos de campo tratando de seguir las rutas principales de los jaguares y pumas y considerando al sustrato y terreno que permitiera visualizar las excretas. La identificación de excretas y huellas se hizo de acuerdo a Aranda (1994), Núñez *et al.*, (2000), Rosas-Rosas *et al.*, (2003), Garla *et al.*, (2001). También se buscaron rastros asociados para apoyar la identificación. La huella de un jaguar tiene el

cojinete más redondo y los lóbulos inferiores menos conspicuos que el puma; los dedos del puma son más elípticos y delgados que los del jaguar. En general, el tamaño de las huellas de un jaguar son más grandes que las de un puma, pero esto no necesariamente se cumple durante la identificación de excretas ya que el tamaño de las huellas varía con la edad y el sexo (Aranda, 1994).

Una vez colectadas las excretas éstas se depositaron en bolsas de papel de estraza, identificándolas con los datos del lugar, fecha, observador, hora, y tipo de hábitat. Cuando las excretas no se asociaron a rastros adicionales de la especie en estudio, se consideraron como muestras de “felino desconocido”.

Las excretas colectadas se mantuvieron en un lugar seco y fresco hasta el momento de su transporte al Colegio de Postgraduados Campus San Luis Potosí y posteriormente al laboratorio de la UAM-Xochimilco en donde se conservaron a una temperatura de -70 °C hasta el momento de los análisis moleculares.

2. 2. 2 Análisis macro y microscópico

Las muestras de excretas se descongelaron y fueron colocadas en un recipiente rectangular durante 24 a 48 horas en una solución jabonosa preparada con 3 litros de agua y 40 ml de jabón líquido. Después se lavaron a mano utilizando dos tamices de diámetro decreciente (4.2 y 3.7 mm).

Los componentes de las muestras, que incluían pelos, huesos, dientes, mandíbulas, escamas, pezuñas y restos de vegetación se separaron y guardaron en bolsas de plástico individuales.

Se emplearon las características macroscópicas de los restos de las muestras para identificar las presas taxonómicamente por orden, familia, género y cuando fue posible hasta especie.

Se compararon los pelos de las presas que aparecieron en las muestras con laminillas de microscopio de presas ya conocidas para observar el patrón medular, pieles para ver la textura y coloración de pelo, y esqueletos, cráneos y dientes de la referencia de la Colección Nacional de Mamíferos del Instituto de Biología de la UNAM y de la del Laboratorio de Cordados Terrestres de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del

Instituto Politécnico Nacional así como el uso de la guía de identificación de mamíferos realizada por Monroy (2003).

2. 2. 3 Cálculos de frecuencia y porcentaje de ocurrencia

Para calcular la frecuencia absoluta se midió el número de veces que apareció un tipo de presa en las excretas halladas, es decir, el número de excretas con presencia de ese tipo de presa. La frecuencia de ocurrencia se calculó con el cociente de la frecuencia absoluta dividida entre el número de excretas colectadas.

Por otra parte, los tipos de presas también fueron analizados a partir del porcentaje de aparición, el cual indica el porcentaje en que aparece una presa respecto al total de ellas.

El cálculo de la biomasa consumida se ajustó para no subestimar la aportación energética de las presas pequeñas y sobreestimar la de las presas grandes, por lo que se hizo una corrección de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Y = 1.98 + 0.035 x$$

Donde Y es el peso del alimento consumido por excreta, y x es el total de peso vivo de la presa. Esta corrección es la reportada por Ackerman *et al.*, (1984) quienes hicieron un cálculo de la biomasa de las presas consumidas por el puma.

El peso de las presas se tomó de acuerdo a lo reportado por Leopold (1959) para la fauna silvestre mexicana. El kg de heces producido se refiere a los ajustes que se hacen de la ecuación de Ackerman (*op. cit.*) con los valores de los pesos de cada presa.

El resultado de la frecuencia relativa de presas encontradas en las muestras por la producción de heces dada por cada tipo de presa y ajustadas con los valores de Ackerman (*op. cit.*) nos da una estimación de la aportación que da cada tipo de presa a la dieta, reflejada por las apariciones en las heces.

La biomasa relativa es la cantidad porcentual que aporta cada tipo de presa a la dieta de jaguar y puma, tomando en cuenta el ajuste de los valores de los pesos y la cantidad de biomasa aportada para evitar subestimar las presas pequeñas y sobreestimar las presas grandes.

A partir de los cálculos anteriores se puede hacer una estimación del número de individuos que puede tomar en un año el jaguar y el puma en el área de estudio, con base a todos los tipos de presas que fueron encontrados en las excretas.

El índice de Pianka se empleó para conocer el grado de superposición (*overlapping*) entre la dieta de jaguar y puma, esta información es útil para inferir una posible competencia por presas entre ambas especies, como lo reportan Clemente *et al.* (2009).

3. 1 RESULTADOS

La información sobre dieta obtenida de 13 excretas de jaguar sugiere que esta especie consumió en este periodo de muestreo más pecarí de collar, tlacuache común y coatí, presentándose en 8, 4 y 3 excretas, respectivamente (Cuadro 3.1). Mientras que hubo consumo de otros mamíferos de mediano tamaño, como el tepezcuintle y el mapache, que representaron menos del 10% de la frecuencia relativa en el total de las excretas de jaguar.

Cuadro 3.1 Especies consumidas por el jaguar (*Panthera onca*) en el Municipio de Tamasopo, SLP, de acuerdo al análisis de restos de presas en excretas. N = 13

No. de muestra	Identificación de la muestra	<i>Pecari tajacu</i>	<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Dasyus novemcinctus</i>	<i>Procyon lotor</i>	<i>Cuniculus paca</i>	<i>Nasua narica</i>	<i>Sceloporus sp.</i>	<i>Mephitis macroura</i>	<i>Didelphis virginiana</i>
1	14				x			x		
2	18				x		x			
3	22	X								
4	26	X	x							
5	x2	X								x
6	5	X					x			
7	12	X								
8	15					x				x
9	16					x			x	
10	23	x								
11	27			x			x			x
12	x3	x								
13	x4	x								x
Total		8	1	1	2	2	3	1	1	4

Se calcularon las frecuencias y porcentaje de ocurrencias para cada tipo de presa hallada en las excretas de jaguar (Cuadro 3.2). La frecuencia absoluta es el número de veces que aparece una presa o componente en el número total de excretas. La frecuencia de ocurrencia es el cociente de la frecuencia absoluta entre el número total de excretas. El porcentaje de aparición es el cociente de la frecuencia absoluta del componente entre la suma de todas las apariciones, multiplicado por 100. La frecuencia relativa nos indica el porcentaje relativo del tipo de presa que se encontró en el total de excretas de jaguar, y el peso vivo de la presa es el peso promedio de las presas reportado por Leopold (1959).

Cuadro 3.2 Frecuencias y porcentajes de ocurrencia de presas en las muestras de excretas de jaguar (*Panthera onca*).

Especie	Frecuencia ocurrencia	Frecuencia absoluta	Porcentaje de aparición	Frecuencia relativa	Peso vivo presa
<i>Pecari tajacu</i>	0.047	0.61	6.83	34.78	19
<i>Odocoileus virginianus</i>	0.006	0.07	0.85	4.34	60
<i>Dasybus novemcinctus</i>	0.006	0.07	0.85	4.34	4.8
<i>Procyon lotor</i>	0.012	0.15	1.70	8.69	5.5
<i>Cuniculus paca</i>	0.012	0.15	1.70	8.69	13
<i>Nasua narica</i>	0.018	0.23	2.56	13.04	4.87
<i>Sceloporus sp.</i>	0.006	0.07	0.85	4.34	0.015
<i>Mephitis macroura</i>	0.006	0.07	0.85	4.34	1.725
<i>Didelphis virginiana</i>	0.024	0.30	3.41	17.39	2.47

El pecarí fue la presa que tuvo el valor más alto en la frecuencia de ocurrencia, absoluta y relativa, observándose también esto en el porcentaje de aparición. La presa de mayor peso fue el venado cola blanca (Cuadro 3.2).

Con base a la fórmula de Ackerman *et al.* (1984) se calcularon los kilogramos de heces producidos por jaguar al consumir cierto tipo de presa; la frecuencia de aparición como el número de veces que apareció un componente en el total de presas halladas; la biomasa relativa de las presas consumidas como la cantidad de biomasa aportada por cada tipo de presa a la dieta del jaguar, ya corregida esta biomasa con el factor de corrección de Ackerman; la biomasa relativa de acuerdo al peso de la presa y el número relativo de individuos por cada tipo de presa que un jaguar consumiría al año, sin embargo este resultado se debe tratar con mesura puesto que es únicamente una estimación inicial de este estudio para ir elucubrando sobre la dieta de estos felinos (Cuadro 3.3). La presa consumida en la que

se vio reflejada la mayor cantidad de kg de heces producidos fue el venado cola blanca, seguido por el pecarí y el temazate; la frecuencia de aparición y la biomasa relativa indican la importancia que tuvieron cada una de las presas de acuerdo a lo que consumió cada felino, ambos se alimentaron más de pecarí de collar y tlacuache común, mientras que la tercer presa más consumida por jaguar fue el coatí (Cuadro 3. 3) y por el puma el temazate (Cuadro 3.6).

Cuadro 3. 3 Biomasa relativa y estimación del número de presas individuales consumidas al año por jaguar.

Especie	Cantidad de heces producida (Kg)	Frecuencia de aparición	Biomasa relativa	Biomasa relativa - peso presa	Número relativo individuos
<i>Pecari tajacu</i>	2.64	92	39.64	2.08	11.54
<i>Odocoileus virginianus</i>	4.08	17.73	7.64	0.12	0.70
<i>Dasypus novemcinctus</i>	2.14	9.33	4.02	0.83	4.63
<i>Procyon lotor</i>	2.17	18.89	8.14	1.48	8.18
<i>Cuniculus paca</i>	2.43	21.17	9.12	0.70	3.88
<i>Nasua narica</i>	2.15	28.04	12.08	2.48	13.73
<i>Sceloporus sp.</i>	0.015	0.06	0.02	1.87	10.36
<i>Mephitis macroura</i>	2.04	8.87	3.82	2.21	12.26
<i>Didelphis virginiana</i>	2.06	35.93	15.48	6.26	34.68

Se hicieron los mismos cálculos de los cuadros anteriores para el puma, basados en los resultados obtenidos al analizar todas las excretas que pertenecieron a esta especie y a los restos de las presas encontradas (Cuadro 3.4, 3.5 y 3.6).

Cuadro 3. 4. Especies consumidas por el puma (*Puma concolor*) en el Municipio de Tamasopo, SLP, de acuerdo al análisis de restos de presas en las excretas N = 18.

No. de muestra	Identificación de la muestra	<i>Mazama temama</i>	<i>Pecari tajacu</i>	<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Dasyus novemcinctus</i>	<i>Procyon lotor</i>	<i>Capra sp.</i>	<i>Sylvilagus floridanus</i>	<i>Nasua narica</i>	<i>Mephitis macroura</i>	<i>Didelphis virginiana</i>	<i>Philander opossum</i>	<i>Potos flavus</i>
1	1	x											
2	2		x	x									
3	3					x			x		X		
4	4		x								X		
5	9	x	x										
6	11						x			x			
7	20		x										X
8	24				x								
9	25		x										
10	28		x										
11	x1	x	x										
12	6		x										
13	7		x				x				X		
14	8		x										
15	10		x									x	
16	13							x					
17	17					x							
18	21		x								X		
Total		3	12	1	1	2	2	1	1	1	4	1	1

Cuadro 3. 5. Frecuencias y porcentajes de ocurrencia de presas en las muestras de puma (*Puma concolor*)

Especie	Frecuencia ocurrencia	Frecuencia absoluta	Porcentaje de aparición	Frecuencia relativa	Peso vivo presa (Kg)
<i>Mazama temama</i>	0.0093	0.16	1.38	10.0	12
<i>Odocoileus virginianus</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	60
<i>Dasypus novemcinctus</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	4.8
<i>Procyon lotor</i>	0.0062	0.11	0.92	6.67	5.5
<i>Capra sp.</i>	0.0062	0.11	0.92	6.67	8
<i>Sylvilagus floridanus</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	1.35
<i>Nasua narica</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	4.87
<i>Mephitis macroura</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	1.72
<i>Didelphis virginiana</i>	0.0123	0.22	1.85	13.33	2.47
<i>Philander opossum</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	1.2
<i>Potos flavus</i>	0.0031	0.055	0.46	3.33	4.5

Cuadro 3. 6. Biomasa relativa y estimación del número de presas individuales consumidas al año por puma.

Especie	Cantidad de heces producida (Kg)	Frecuencia de aparición	Biomasa relativa	Biomasa relativa - peso presa	Número relativo de individuos
<i>Mazama temama</i>	2.4	24	10.50	0.87	4.87
<i>Pecari tajacu</i>	2.64	105.8	46.32	2.43	13.58
<i>Odocoileus virginianus</i>	4.08	13.6	5.95	0.09	0.55
<i>Dasypus novemcinctus</i>	2.14	7.16	3.13	0.65	3.63
<i>Procyon lotor</i>	2.17	14.48	6.34	1.15	6.42
<i>Capra sp.</i>	2.26	15.06	6.59	0.82	4.59
<i>Sylvilagus floridanus</i>	2.02	6.75	2.95	2.19	12.21
<i>Nasua narica</i>	2.15	7.16	3.13	0.64	3.59
<i>Mephitis macroura</i>	2.04	6.80	2.97	1.72	9.61
<i>Didelphis virginiana</i>	2.06	27.55	12.06	4.88	27.21
<i>Philander opossum</i>	2.02	6.74	2.95	2.45	13.70
<i>Potos flavus</i>	2.13	7.12	3.11	0.69	3.86

Se hizo una estimación para conocer el grado de superposición que hubo en las dietas de jaguar y puma de acuerdo al número de excretas colectadas de ambas especies. Para ello se empleó una ecuación de Pianka (1973) descrita más adelante (Cuadro 3.7).

Cuadro 3. 7 Cálculo de superposición de la dieta para jaguar y puma en Tamasopo, SLP.

Presas	p	q	$p * q$	p^2	q^2
<i>Mazama temama</i>	4.87	0	0	23.71	0
<i>Pecari tajacu</i>	13.58	11.54	156.71	184.41	133.17
<i>Odocoileus virginianus</i>	0.55	0.7	0.38	0.30	0.49
<i>Procyon lotor</i>	6.42	8.18	52.51	41.21	66.91
<i>Capra sp.</i>	1.81	0	0	3.28	0
<i>Sylvilagus floridanus</i>	12.21	0	0	149.08	0
<i>Nasua narica</i>	3.59	13.73	49.29	12.88	188.51
<i>Mephitis macroura</i>	9.61	12.26	117.81	92.35	150.30
<i>Didelphis virginiana</i>	27.21	34.68	943.64	740.38	1202.70
<i>Philander oposum</i>	13.7	0	0	187.69	0
<i>Potos flavus</i>	3.86	0	0	14.89	0
<i>Cuniculus paca</i>	0	3.88	0	0	15.05
<i>Sceloporus sp.</i>	0	10.36	0	0	107.32

p : Estimación del número relativo de individuos consumidos por el puma.

q : Estimación del número relativo de individuos consumidos por el jaguar.

La superposición de la dieta se calculó con uno de los índices de Pianka (1973) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$O = \frac{\sum p_i q_i}{\sqrt{\sum p_i^2 \sum q_i^2}}$$

Donde O es el índice de la superposición (*Overlapping*), p es el número relativo de individuos consumidos por el puma, q es el número relativo de individuos consumidos por el jaguar.

Suma $p * q$	Suma p^2	Suma q^2	Cociente $p^2 * q^2$	Raíz	Índice de Pianka	Porcentaje de superposición de la dieta de jaguar y puma
1320.36	1450.23	1864.48	2703940	1644.36	0.803	80.29%

Las presas compartidas por el jaguar y el puma en la zona de Tamasopo fueron el pecarí de collar, venado cola blanca, mapache, coatí, zorrillo y tlacuache. Las presas más importantes en orden de aparición fueron pecarí de collar, tlacuache y zorrillo. Las especies que fueron consumidas únicamente por el puma fueron temazate, conejo, tlacuache de cuatro ojos, chivo y martucha, mientras que para el jaguar se encontraron lagartija y tuza real.

De acuerdo al índice de Pianka, la dieta que tienen el jaguar y el puma en la zona de estudio tienen un alto grado de superposición (80.29%), por el número de excretas colectadas en el estudio (N = 31, 2007 y 2008) y aunque la muestra es pequeña, el análisis conducido sugiere que podría existir una importante superposición en la dieta de ambos felinos, sin embargo debe tomarse el presente como un estudio piloto y que sirva como base de una colecta mayor de muestras para poder probar esta hipótesis.

4.1 DISCUSIÓN

Las especies de carnívoros con tamaños corporales similares se espera que usen la misma base de presas, puesto que tenderían a comer presas de tamaños parecidos (Emmons, 1987; Taber *et al.*, 1997; Núñez *et al.*, 2000; Polisar *et al.*, 2002; Scognamillo, 2003; Novack, 2005; Salesa, 2006; Donadio, 2006). La superposición de las dietas en el presente estudio hace suponer que existe competencia, o bien que se sigan estrategias de alimentación que mitiguen dicha competencia mediante la separación ecológica de la dieta basada en diferentes horarios, tamaños de presas, y sitios distintos, tal y como ocurre con leones y leopardos en África, (Patterson, 2004).

Cuando llegan a presentarse competencias interespecíficas, las especies de mayor talla pueden ejercer fuertes presiones de selección, causando potencialmente el desplazamiento de la otra especie (Donadio, 2006). Esta situación se observó en una investigación donde los jaguares seleccionaron los pecaríes de collar adultos y el puma depredó más juveniles y presas de menor tamaño. Esto se ha visto también en áreas tropicales, donde hay presas de gran tamaño, el puma no las toma tal vez porque las características del hábitat hacen que no estén muy disponibles (decreciendo las probabilidades de un encuentro) o por el favor de la selección natural a pumas de menor tamaño que se adapten más al terreno, lo cual también los haría más aptos para la explotación de presas más pequeñas (Palmeira, 2008).

El tamaño del área de actividad (*home range*) está correlacionado con la disponibilidad de alimento, es decir, si ésta aumenta los individuos serán capaces de adquirir suficientes nutrientes para sobrevivir y reproducirse en un área más pequeña, maximizando la eficiencia de energía. La masa corporal puede influir en el tamaño del *home range* debido a que los individuos de mayor tamaño necesitan áreas más grandes para cubrir sus necesidades metabólicas. Benson *et al.*, (2006) hicieron un estudio con lince donde probaron que los machos reducen el tamaño del área de actividad y sus áreas núcleo, en respuesta al incremento de la densidad poblacional de sus presas, notando que la disponibilidad de alimento también influyó en el uso del espacio.

Los depredadores pueden limitar el número de presas pero no siempre las presas están restringidas por la depredación (Wegge, 2008). El alimento para el puma puede ser en ocasiones una clara limitante durante algunas estaciones del año bajo condiciones extremas. Aparentemente hay una elusión entre jaguar y puma aunque sus áreas de actividad se superpongan. Para que dos o más especies coexistan bajo la misma base de presas se da una separación espacio-temporal–alimentaria en la que algunas veces cazan en diferentes zonas, a diferentes horas y presas de diferentes tamaños (Polisar *et al.*, 2002).

En nuestros resultados se observó que el puma tuvo mayor amplitud en los tipos de presas que componen su dieta, lo cual podría sugerir que tiene más plasticidad para adaptarse a la disponibilidad de presas aún cuando éstas no sean de su preferencia. Aunque nuestro tamaño de muestra pudiera pensarse que fue pequeña (N = 31), mostró indicios sobre el tipo de dieta que

tienen, y al no haber densidades altas de individuos (Ávila, 2009), el número de excretas en la zona no puede ser alto, por lo que se sugeriría, para darle más robustez a los resultados, se incrementa el periodo de muestreo a varios años, así también se podría hacer una comparación de las presas halladas entre años y entre estaciones (Rosas-Rosas *et al.*, 2003).

En otro estudio, se observó que el puma también caza agutíes y zorros, pero difiere con la dieta del ocelote en Isla de Barro Colorado, Brasil en que el primero depredó especies más grandes, tales como paca, temazate y pecarí de collar (Moreno, 2006), lo cual también podría ser una evidencia de la separación ecológica de presas que han reportado varios autores (Polisar *et al.*, 2002; Scognamillo, 2003; Novack, 2005; Salesa, 2006; Donadio, 2006). Iriarte (1990) con base en sus hallazgos, reportó que el puma puede cazar selectivamente con diferencias en el comportamiento depredador a través de su área de actividad, dependiendo de la disponibilidad local de las presas y su vulnerabilidad.

El jaguar y el puma comen en general mamíferos de tamaño mediano a grande, pero en algunos estudios se ha visto que el jaguar prefiere el pecarí y el puma consume más venado cola blanca (Aranda, 1996; Moreno, 2006). También en el leopardo se ha visto que consume más, el impala, pero no se encontró una correlación positiva entre la depredación y la abundancia de esta especie (Hayward, 2006). Y lo mismo ocurrió con el tigre de Bengala, Bagchi (2003), quien estimó que el tigre mostró preferencia para depredar chital, sambar y cerdo salvaje. Esto nos puede dar indicios de la importancia que tiene la disponibilidad de presas como un factor determinante del tipo de dieta del jaguar, puesto que Garla *et al.*, (2001) obtuvieron como su presa más consumida el pecarí de labios blancos (*Tayassu pecari*) en la Reserva Forestal de Linhares, Brasil. En esta región no se encuentra distribuido el venado cola blanca, pero sí el armadillo, que al igual que en México es la segunda presa preferida por el jaguar (Aranda, 1993)

El incremento observado en el consumo de pecarí en la Reserva de Cockscomb en Belice se ha encontrado relacionado a la prohibición de la caza en la región a partir de la creación de la reserva. Sunquist *et al.*, (1995) sugirieron que la dominancia de presas pequeñas en las dietas encontradas por Rabinowitz (1986) puede ser atribuida a la remoción que han hecho los pobladores tanto para subsistencia como para trofeo. La supervivencia de los jaguares y pumas

depende de la existencia de suficientes presas, por lo que la extinción de ellas amenazaría severamente la viabilidad de las poblaciones de estos dos felinos.

Scognamillo *et al.*, (2003) reportaron selectividad en los jaguares y pumas de los llanos venezolanos, sus resultados indicaron que el jaguar mostró preferencia hacia especies que le suministraban una mayor ganancia de energía.

Emmons (1987) dice que es poco probable que una sola excreta represente un solo día de ingesta, puesto que hay partes de las presas con diferente grado de digestibilidad, hay diferentes tiempos de retención en el tracto digestivo, por lo que las presas serán excretadas en diferentes días. Las presas más grandes, como el venado y el capibara podrían representar aproximadamente el 75% de lo consumido, mientras que presas más pequeñas se consumen casi en su totalidad. Este autor encontró que en su área de estudio, Cocha Cashu, los reptiles fueron un componente importante en la dieta del ocelote y jaguar. El pecarí fue tomado con preferencia, sugiriendo que las poblaciones de pecarí sean más vulnerables a la depredación, o el jaguar lo busca más. El puma no mostró esta preferencia por el pecarí, sus presas más importantes fueron agutí y paca. Si el porcentaje de ocurrencia de la presa encontrada en las excretas no está corregido a la biomasa consumida, habrá una sobreestimación relativa de las presas pequeñas en la dieta debido a que se producirían más excretas por unidad de peso de la presa consumida respecto a presas grandes. Por tanto, la frecuencia de ocurrencia de diferentes tipos de presa en las excretas podría no representar el número relativo de presa consumidas, por lo que se emplea la biomasa consumida, que provee una representación más precisa de la dieta más que el porcentaje y frecuencia de ocurrencia (Núñez *et al.*, 2000; Wegge, 2008).

Las muestras frescas de excrementos en zonas tropicales son frecuentemente destruidas en unas horas cuando es época de lluvia y/o por escarabajos del estiércol y abejas trigónidas, por lo que es sumamente necesario cuando se hacen este tipo de estudios de análisis de dieta, coleccionar las excretas lo más pronto posible para evitar que se pierdan datos importantes sobre la alimentación que estén llevando a cabo los animales estudiados (Emmons, 1987; Garla, 2001). Para ello, se ha recomendado el uso de perros rastreadores, pues han resultado un apoyo importante para incrementar hasta 3 veces el número de muestras coleccionadas con una precisión de más de 80%, según lo reportado por Long *et al.*, (2007).

Durante este estudio y de 31 excretas colectadas, sólo se observaron rastros de animal doméstico en 2 excretas, lo cual nos podría indicar que la zona no presenta mucha perturbación de las poblaciones de presas naturales y probablemente las muertes sean causadas por otros carnívoros, como coyotes o perros ferales, o bien, por manejos inadecuados del ganado (Rosas-Rosas *et al.*, 2008). También hay que considerar que el número de excretas es limitado y tal vez pueda ser la causa de la falta de evidencia de restos de ganado, el cual es comúnmente mencionado por los pobladores de la región, como depredado por jaguares y/o pumas en la región. Es recomendable continuar con estos estudios y coleccionar más excretas para poder determinar si el ganado es presa ocasional o estacional del jaguar o el puma en esta región. Si los becerros son presas más detectables que las presas silvestres de tamaño mediano para los pumas y jaguares durante el resto del año y si la gente de la comunidad no tiene cuidado en el manejo del ganado, son escenarios ideales para que se de depredación no solamente por felinos sino por otros carnívoros.

6. 1 CONCLUSIONES

Los felinos americanos más grandes, el jaguar y el puma, han sido objeto de diferentes amenazas provocadas en forma directa o indirecta por actividades humanas (fragmentación y pérdida de hábitat, cacería furtiva, persecución por ganaderos) a lo largo de su rango de distribución en México. En los análisis practicados a las muestras de excretas colectadas de mayo de 2007 a mayo de 2008 en el Municipio de Tamasopo, SLP los jaguares no presentaron consumo de ganado, mientras que en las de pumas sólo se encontraron rastros en 2 de 18 excretas.

De las 31 excretas colectadas (18 de puma y 13 de jaguar), el número de presas fue de 9 especies para el jaguar y 12 para el puma, sobresaliendo el pecarí de collar, tlacuache y coatí para ambos depredadores. En el área de estudio es probable que las poblaciones de las presas más consumidas se encuentren en una disponibilidad adecuada para jaguares y pumas, no obstante la población humana tradicionalmente usa la fauna como una fuente de alimento. Por tal razón, es conveniente realizar talleres donde se impartan pláticas de educación ambiental

a la comunidad en general, a los propietarios de ganado capacitarlos para mejorar sus estrategias de manejo y así evitar eventos de depredación a ganado doméstico. Es ineludible recalcar en las pláticas de educación ambiental la importancia de manejar, conservar y coexistir con ambos felinos considerados especies sombrilla que al conservarlos, simultáneamente conservamos a las especies que coexisten con ellos.

La resistencia a disturbios humanos varía entre los felinos, aunque el jaguar es una especie más sensible a tales amenazas humanas, por lo que para que sus poblaciones permanezcan se requieren esfuerzos de conservación urgentes en diferentes áreas, donde los corredores biológicos se privilegien para promover el flujo genético entre las poblaciones que ocurren en México y en Centroamérica.

5. 1 LITERATURA CITADA

- Ackerman B.B., F.G. Lindzey, T.P. Hemker. 1984. Cougar food habits in southern Utah. *Journal of Wildlife Management* 48: 147-155.
- Aranda, M. 1993. Hábitos alimentarios del jaguar (*Panthera onca*) en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche. Avances en el Estudio de los Mamíferos de México. Publicaciones Especiales. Medellín R y G Ceballos (eds), 1.
- Aranda, M. 1994. Diferenciación entre las huellas de jaguar y puma: un análisis de criterios. *Acta Zoológica Mexicana* 63: 75-78.
- Ávila, D. M. 2009. Abundancia del jaguar (*Panthera onca*) y de sus presas e el Municipio de Tamasopo, San Luis Potosí. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México. 94 pp.
- Bagchi, S., P. Goyal y K. Sangar. 2002. Prey abundance and prey selection by tigers (*Panthera tigris*) in a semi-arid, dry deciduous forest in western India. *Journal of Zoology* 260: 285-290.
- Benson, J., M. Chamberlain y B. Leopold. 2005. Regulation of space use in a solitary felid: population density or prey availability? *Animal Behaviour* 71: 685-693.
- CITES. 2009. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. (<http://www.cites.org>).

- Clemente, F., J.L. Holechek, R. Valdez y G.D. Mendoza. 2009. Influence of Range Condition on Pronghorn (*Antilocapra americana*) and cattle diets in Southern New Mexico. *J Appl. Anim. Res.* 36: 13-16.
- Donadio, E., S. Buskirk. 2006. Diet, Morphology, and Intespecific Killing in Carnivora. *The American Naturalist*, 167.
- Emmons, L. 1987. Comparative feeding ecology of felids in a neotropical rainforest. *Behav Ecol Sociobiol.* 20: 271-283.
- Garla RC, E. Z. F. S. y N. Gobbi. 2001. Jaguar (*Panthera onca*) Food Habits in Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. *Biotropica* 33: 691-696.
- Hayward, M, P. Henschel, J. O'Brien, M. Hofmeyr, G. Balme y H. Kerley. 2006. Prey preferences of the leopard (*Panthera pardus*). *Journal of Zoology.* 1-16 pp.
- International Union of Conservation of Nature 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.2. <<http://www.iucnredlist.org>>. Downloaded on 12 January 2010.
- Iriarte, J., W. F., W. Johnson y K. Redford. 1990. Biogeographic variation of food habits and body size of the America puma. *Oecologia* 85: 185-190.
- Leopold A. S. *Wildlife of Mexico. The Game Birds and Mammals.* 1959. University of California Press. 545 pp.
- Leopold, A. S. 2000. *Fauna silvestre de México, México.*
- Long, R, T. Donovan, P. Mackay, W. Zielinski y J. Buzas. 2007. Effectiveness of scat detection dogs for detecting forest carnivores. *Journal of Wildlife Management* 71: 2007-2017.
- Monroy-Vilchis, O. y R. Rubio. 2003. *Guía de identificación de mamíferos terrestres del Estado de México, a través del pelo de guarda.* Universidad Autónoma del Estado de México. 115 pp.
- Monroy-Vilchis, O., Ó. S., U. Aguilera, P. Suárez y V. Urios. 2008. Jaguar (*Panthera onca*) in the State of Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 53, 533-537.
- Moreno, R., R.W. Kays y R. Samudio Jr. 2006. Competitive Release in diets of ocelot (*Leopardus pardalis*) and puma (*Puma concolor*) after jaguar (*Panthera onca*) decline. *Journal of Mammalogy* 87: 808-816.
- Novack, A. J, M. Main, M. Sunquist y R. Labisky. 2005. Foraging ecology of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in hunted and non-hunted sites within the Maya Biosphere Reserve, Guatemala. *Journal of Zoology* 267: 167-178.
- Norma Oficial Mexicana 059. IN PESCA, S. D. M. R. N. Y. (Ed.). México. 2001

- Núñez, R., B. Miller y F. Lindzey. 2000. Food habits of jaguars and pumas in Jalisco, México. *Journal of Zoology* 252: 373-379.
- Palmeira, F. B. L., P.G. Crawshaw Jr, C.M. Haddad, B. Ferraz y L.M. Verdade. 2008. Cattle depredation by puma (*Puma concolor*) and jaguar (*Panthera onca*) in central-western Brazil. *Biological Conservation* 141: 118-125.
- Patterson, B. D. S. M. K., E. Selempo y R.W. Kays. 2004. Livestock predation by lions (*Panthera leo*) and other carnivores on ranches neighboring Tsavo National Parks, Kenya. *Biological Conservation* 119: 507-516.
- Pianka, E. R. 1973. The structure of lizard communities. *Annual Rev. Ecol. System.* 4: 53-74.
- Polisar J, I. M., D. Scognamillo, L. Farrell, M.E. Sunquist y J.F. Eisenberg. 2003. Jaguars, pumas, their prey base, and cattle ranching: ecological interpretations of a management problem. *Biological Conservation* 109: 297-310.
- Rabinowitz, A. (1986) Jaguar predation on domestic livestock in Belize. *Wildlife Society Bulletin* 14: 170-174.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez, L.C. Bender y D. Daniel. 2003. Food habits of pumas in northwestern Sonora, Mexico. *Wildlife Society Bulletin*, 31, 528-535.
- Rosas-Rosas, O., R. Valdez y L.C. Bender. 2008. Jaguar and puma predation on cattle calves in Northeastern Sonora, Mexico. *Rangeland Ecology & Management.* 61.
- Salesa, M.J., M. A., A. Turner y J. Morales. 2006. Inferred behavior and ecology of the primitive sabretoothed cat *Paramachairodus ogygia* (Felidae, Machairodontinae) from the Late Miocene of Spain. *Journal of Zoology* 268: 243-254.
- Sanderson, E., C. L. Chetkiewicz, R. A. Medellín, A. Rabinowitz, K. Redford, J. G. Robinson y A. Taber. 2002. Un análisis geográfico del estado de conservación y distribución de los jaguares a través de su área de distribución, México, En R. Medellín, C. Equihua, C. L. B. Chetkiewicz, P. G. Crawshaw Junior, A. Rabinowitz, K. H. Redford, J. G. Robinson, E. W. Sanderson y A. E. Taber (eds). *El jaguar en el nuevo milenio*. Universidad Nacional Autónoma de México, Wildlife Conservation Society, Fondo de Cultura Económica. México, D. F., México.
- Scognamillo, D. I. E. M., M. Sunquist y J. Polisar. 2003. Coexistence of jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) in a mosaic landscape in the Venezuelan llanos. *Journal of Zoology* 259: 269-279.
- Taber A B, A. J. N., N. Neris y F. H. Colman. 1997. The Food Habits of Sympatric Jaguar and Puma in the Paraguayan Chaco. *Biotropica* 29: 204-213.
- Taber A., C. Lesley, B. Chetkiewicz, R. Medellín, A. Rabinowitz y K. Redford. En R. A. Medellín, C. Equihua, C. L. B. Chetkiewicz, P. G. Crawshaw Junior, A. Rabinowitz, K.

H. Redford, J. G. Robinson, E. W. Sanderson y A. E. Taber (eds). El jaguar en el nuevo milenio. Universidad Nacional Autónoma de México, Wildlife Conservation Society, Fondo de Cultura Económica. México, D. F., México. 629-640 pp.

Valdez R., A. Martínez y O. Rosas-Rosas. 2002. Componentes históricos y actuales del hábitat del jaguar en el Noreste de Sonora, México. En R. A. Medellín, C. Equihua, C. L. B. Chetkiewicz, P. G. Crawshaw Junior, A. Rabinowitz, K. H. Redford, J. G. Robinson, E. W. Sanderson y A. E. Taber (eds). El jaguar en el nuevo milenio. Universidad Nacional Autónoma de México, Wildlife Conservation Society, Fondo de Cultura Económica. México, D. F., México. 367-378 pp.

Wegge, P., M. Odden, C. Pokharel, T. Storaas. 2008. Predator-prey relationships and responses of ungulates and their predators to the establishment of protected areas: A case study of tigers, leopards and their prey in Bardia National Park. *Biological Conservation* 142: 189-202.

6. 1 RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

En virtud de los bosques tropicales y templados en México desaparecen a una tasa alarmante, aunado al incremento de tierras agrícolas, matorrales y pastos para ganado, se requiere implementar actividades económicas alternativas para los pobladores rurales que no necesariamente impliquen la sobre explotación de los recursos naturales, tales alternativas pudieran incluir al ecoturismo, el desarrollo de prácticas de manejo de hábitat para el incremento de las poblaciones presa, entre otras.

Hay algunas especies de fauna mexicana que pueden persistir a pesar de la reducción sustancial de la cobertura de su hábitat, pero estas reducciones afectan a otros mamíferos y aves, como se ha visto con el cambio en el uso del suelo, lo cual modifica las condiciones del hábitat para mamíferos y en especial a los amenazados. Los hábitats propicios para la fauna silvestre se han venido perdiendo de forma más rápida desde la década de los noventas (Fuller *et al.*, 2006).

Algunos estudios, como el de Rosas-Rosas *et al.* (2008), indican que la mayoría de las depredaciones de jaguar a ganado ocurrió durante la época de secas, en hábitats ribereños con una cobertura termal específica, forraje abundante y agua permanente, lo cual pareciera ser el escenario ideal para que el depredador tenga el componente cobertura de acecho y escape ideal. Bajo estas condiciones ambientales y de hábitat particulares, se recomienda no conducir

acciones de pastoreo doméstico a menos que este pastoreo se complemente con prácticas de mejoramiento de hábitat específicas, como sería el distribuir agujas y sales en áreas abiertas y de alta visibilidad a favor de las especies domésticas.

Sería conveniente realizar programas de manejo en la comunidad para que la gente establezca temporadas de veda, permitiendo que las poblaciones de presas incrementen y posteriormente puedan hacer un uso sustentable de estos recursos, sin perjudicar la disponibilidad de presas para los felinos.

Para obtener una mayor precisión en la definición de la composición de dieta del jaguar y puma y para conocer otros aspectos relacionados con la reproducción y presencia de parásitos en el área de estudio, se requiere incrementar los esfuerzos de muestreo para recabar el mayor número de excretas *oportunamente*. Los métodos no invasivos se han convertido en el mejor aliado de la investigación con especies elusivas, crípticas o de hábitos que dificultan su estudio, por lo cual también se ha sugerido el uso de perros rastreadores en la colecta de excretas.

La identificación molecular de depredadores a partir de muestras de pelo y heces colectadas en el sitio de muerte es muy práctica y ha venido tomando mucho auge, sobre todo porque el costo de estos análisis inicialmente era inaccesible para la mayoría de los países, pero con el paso del tiempo, se han ido economizando. El uso de identificaciones moleculares puede estar restringido a instancias donde la evidencia de campo es cuestionable o difícil de interpretar, por lo que la coalescencia de estos promoverá decisiones de manejo más eficaces, especialmente cuando se trata de depredación donde se involucran carnívoros en peligro de extinción o amenazados. Además, el uso de métodos moleculares puede proveer información adicional acerca de la población, por ejemplo, la identificación a nivel individual, el grado de parentesco, la diversidad genética, la cual puede ser valorable para el diseño de estrategias de conservación y si se quiere ver la viabilidad en términos de variación genética que potencialmente tenga una población, sería de suma importancia cuando se trata de poblaciones fragmentadas que tienen tamaños pequeños (DeYoung, 2005).

Por último y no menos importante, es imprescindible crear una buena comunicación con los habitantes de las comunidades que son los que realmente conviven con la fauna

silvestre, para que en el momento que detecten una posible depredación al ganado, se les pueda orientar sobre las características particulares que tienen los patrones de depredación de cada felino, así se evitaría los deseos de eliminar a los felinos que ocurren en sus regiones.

ANEXO I

Glosario

1. **ADN:** ácido desoxirribonucleico. Es la molécula que contiene la información genética usada en el desarrollo y el funcionamiento de los organismos vivos conocidos y de algunos virus, siendo el responsable de su transmisión hereditaria.
2. **Citocromo b:** gene mitocondrial con participación activa en la cadena respiratoria. Su fácil obtención como marcador universal para muchos mamíferos se ha extendido en los últimos años en muestras con alta degradación.
3. **Desnaturalización:** para el caso del ADN, es la separación de la doble hélice, que ocurre porque los enlaces o puentes de hidrógeno se rompen.
4. **Dot blotting:** técnica que permite la detección de una secuencia de ADN en una muestra de ácido nucleico. Se realiza una hibridación con una sonda de ácido nucleico marcada de algún modo (ya sea con radiactividad o con un compuesto químico). Dicha hibridación se realiza tras la transferencia del ADN a una membrana de filtro.
5. **Electroforesis:** es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de éstas en un campo eléctrico. La separación puede realizarse sobre la superficie hidratada a través de una matriz porosa (electroforesis en gel). Dependiendo de la técnica que se use, la separación obedece en distinta medida a la carga eléctrica de las moléculas y a su masa.
6. **Fotón:** es la partícula portadora de todas las formas de radiación electromagnética, incluyendo a los rayos gamma, los rayos X, la luz ultravioleta, la luz visible, la luz infrarroja, las microondas, y las ondas de radio.
7. **Fragmentos de lectura:** es una porción del genoma de un organismo, la cual contiene una secuencia de bases que podría potencialmente codificar para una proteína.
8. **Gene:** es una secuencia lineal organizada de nucleótidos en la molécula de ADN o ARN, que contiene la información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica.
9. **Hibridación:** es un proceso por el cual se combinan dos cadenas de ácidos nucleicos antiparalelas y con secuencia de bases complementarias, en una única molécula de doble cadena que toma la estructura de doble hélice.

10. **Intrón:** es una región del ADN que debe ser eliminada del transcrito primario de ARN, a diferencia de los exones que son regiones que codifican para una determinada proteína
11. **Isótopo radiactivo:** son variantes de un elemento que difieren en el número de neutrones que poseen. La diferencia de los radioisótopos es que su núcleo atómico tiene radiactividad. El núcleo emite una radiación para compensar la diferencia de neutrones y protones.
12. **Locus/Loci:** es una posición fija sobre un cromosoma, como la posición de un gen o de un marcador genético. Loci es el plural.
13. **Mitocondria:** organelo celular encargado principalmente de la respiración de la célula; posee su propio genoma.
14. **PCR:** *Polymerase Chain Reaction* (Reacción en Cadena de la Polimerasa). es una técnica de biología molecular cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo que es usado como plataforma o molde.
15. **Primer:** es una secuencia corta de ácido nucleico que contiene un grupo 3'hidroxilo libre que forma pares de bases con una hebra complementaria y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde.
16. **Taq polimerasa:** enzima producida por la bacteria termófila (*Thermus aquaticus*) ampliamente utilizada por sus propiedades de termorresistencia en las reacciones de PCR.

Preparación de las soluciones (Capítulo I)

Solución de buffer TAE (50X):

- TRIS (24.2 g)
- Ácido acético glacial (5.71 ml)
- EDTA 0.5 M (10 ml)

Solución TE:

- 10 mM Tris
- 1 mM EDTA

Solución SDS:

- Sulfato dodecil de sodio
- Agua miliQ

Solución de Tiocianato de guanidina:

- Solución de lisis 5 M
- 2% sarcosil
- Cbp 20 ml

Solución de Denhardt para la hibridación:

- Polivinilpirrolidona
- Ficol
- Suero albúmina de bovino

SSC (2X):

- Cloruro de sodio: 17.5 g
- Citrato de sodio: 8.82 g
- Agua miliQ: 73.68 ml

Gel agarosa:

- Agarosa (gramaje de acuerdo a la concentración).
- Solución de buffer TAE (1X).

Solución de la prehibridación:

- 1 mM EDTA
- 0.25 M Na_2HPO_4 , pH 7.2

Solución de la hibridación:

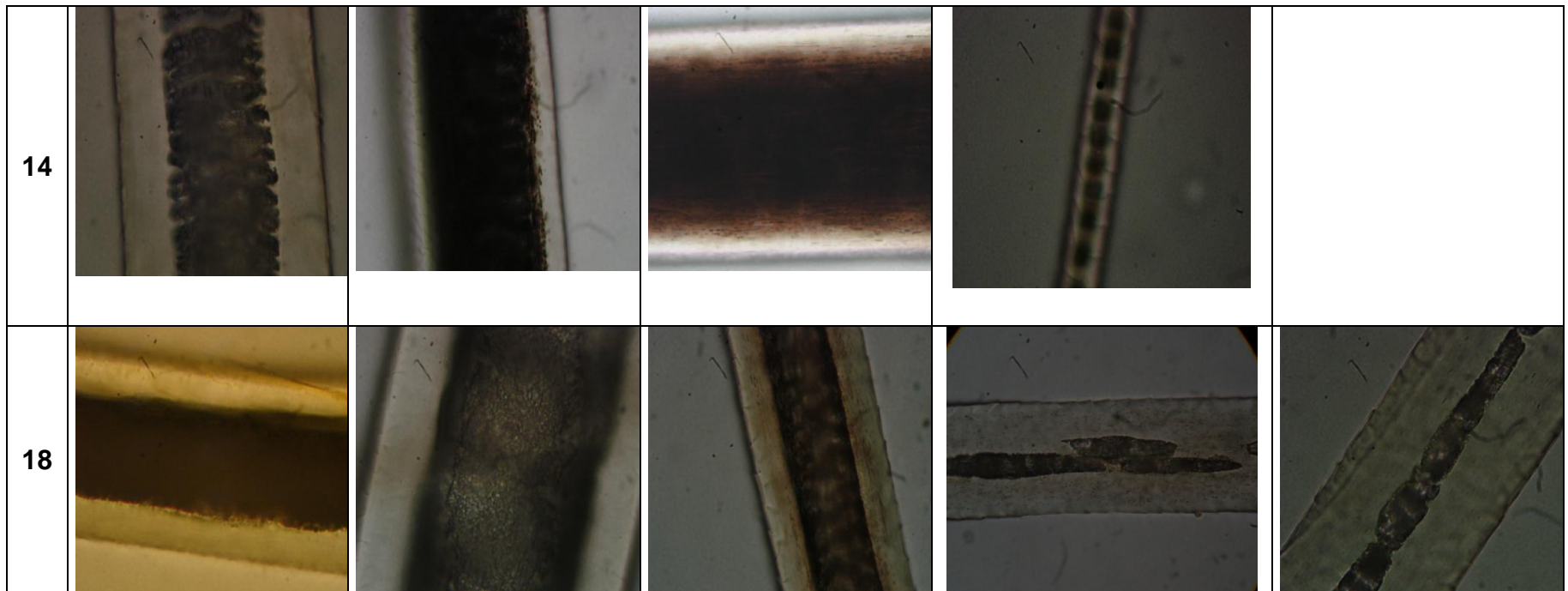
- 1 mM EDTA
- 40 mM Na_2HPO_4
- 5% SDS

Solución de “lavado” de membrana después de la hibridación:

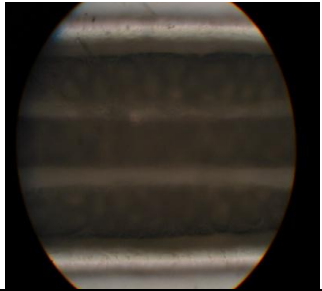
- 1 mM EDTA
- 40 mM Na_2HPO_4
- 1% SDS

ANEXO II

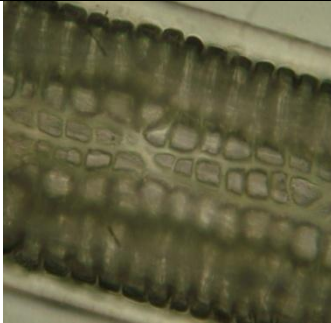
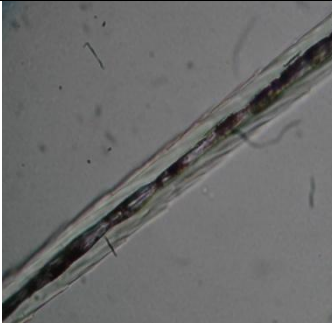
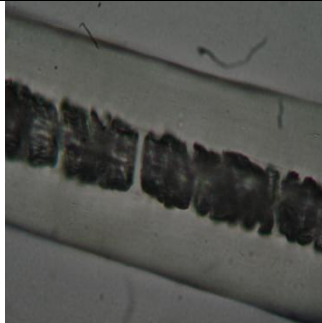
Fotografías representativas de los pelos de presas y depredador hallados en las excretas. A la izquierda está el número de identificación de cada excreta y a la derecha los diferentes tipos de pelos observados y en algunos casos, fotografías en microscopio estereoscópico de otros restos (placas óseas, pezuñas o garras).



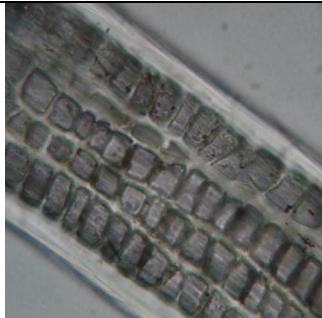
22

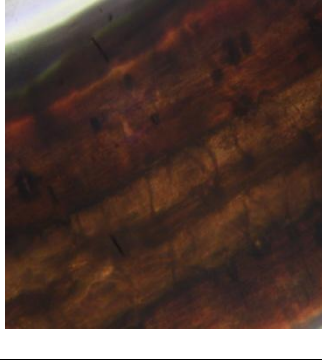
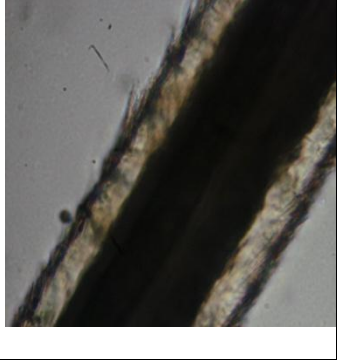





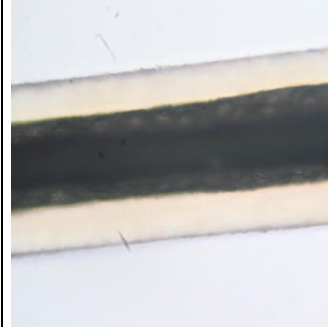
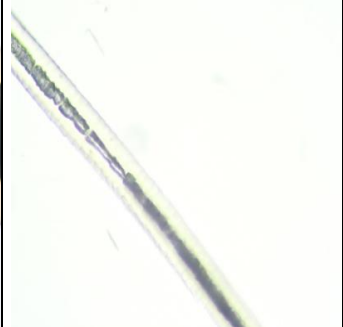

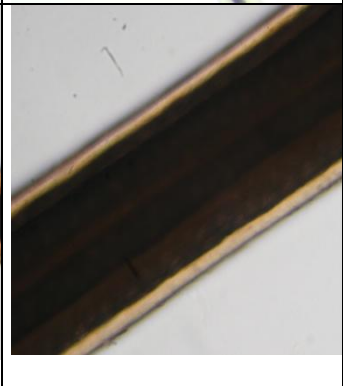
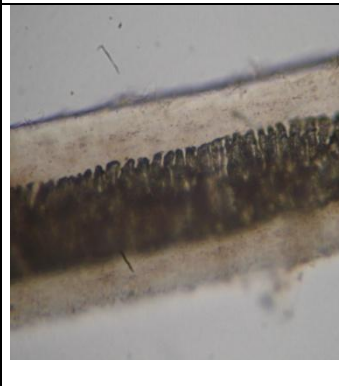
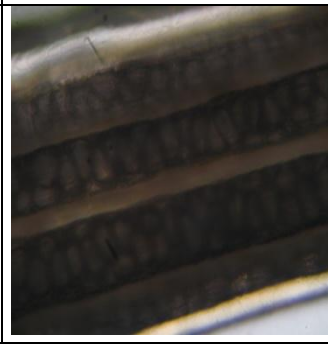
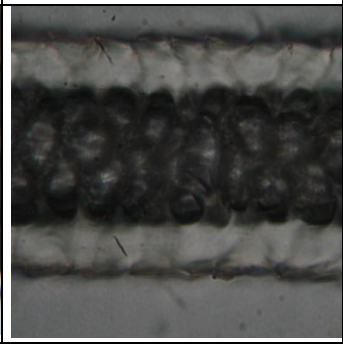

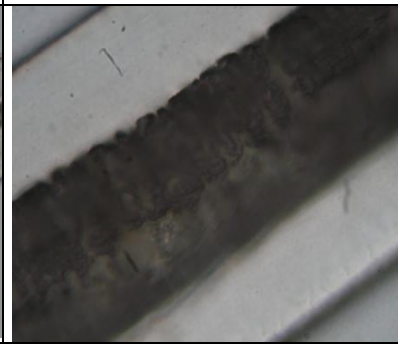
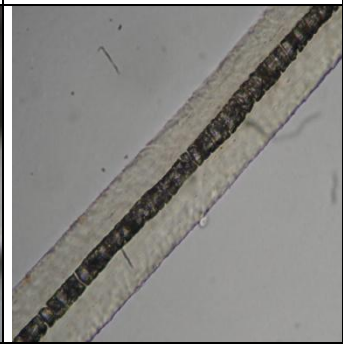
3





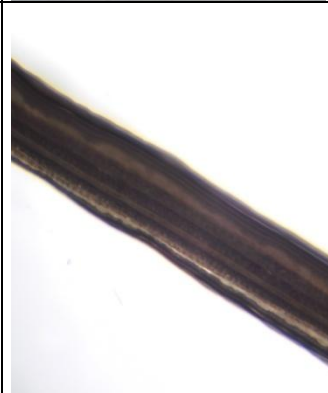
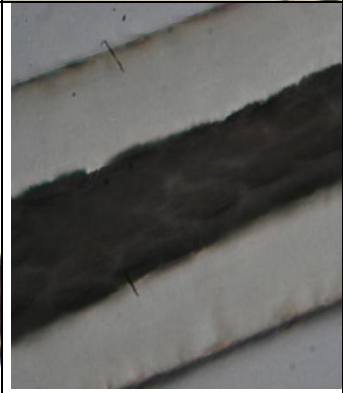


13

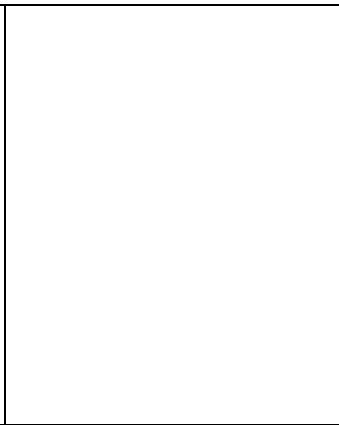
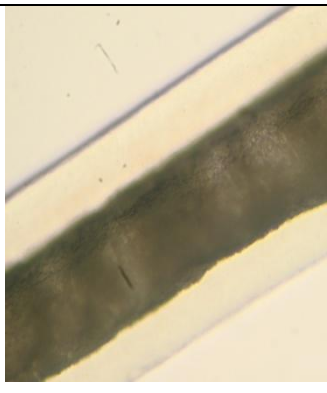
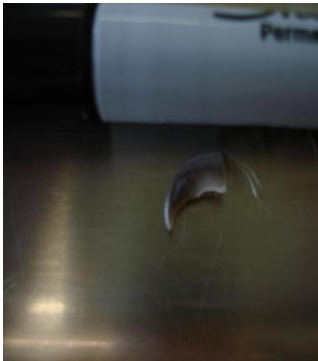


10					
5	pecarí				
25	pecarí				
23	pecarí				
28	pecarí				
7					

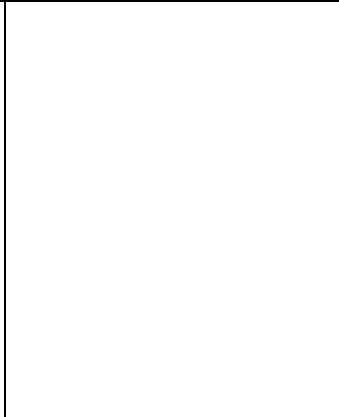
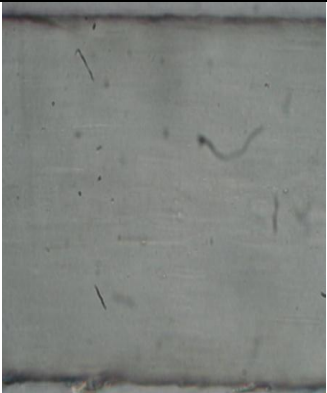
21					
20					
26					

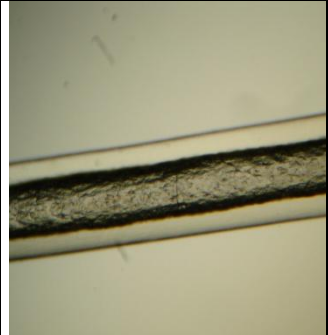
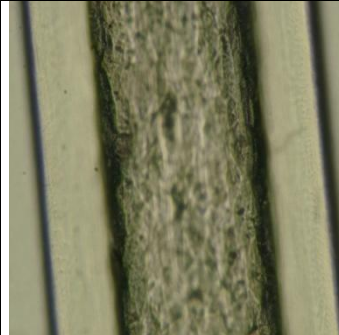
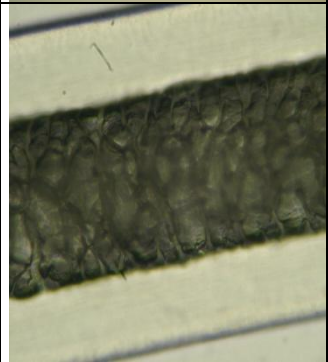
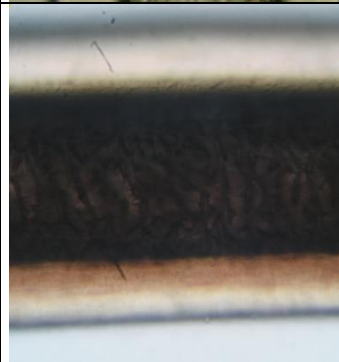
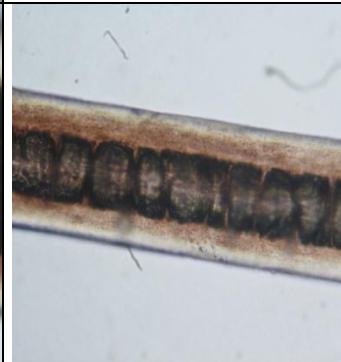

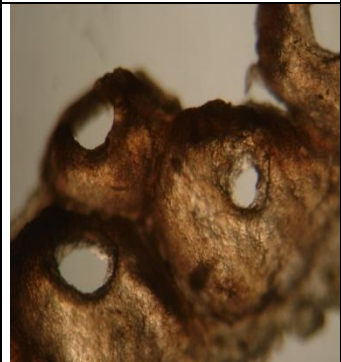
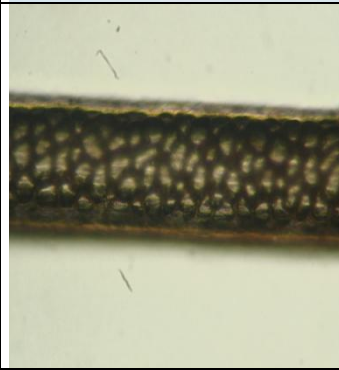
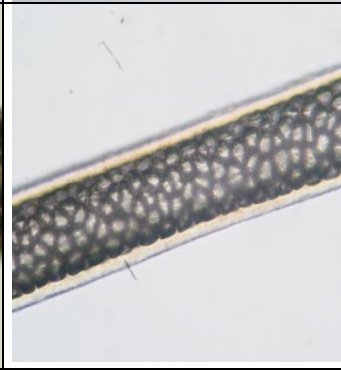
X3					
X4					
X2					


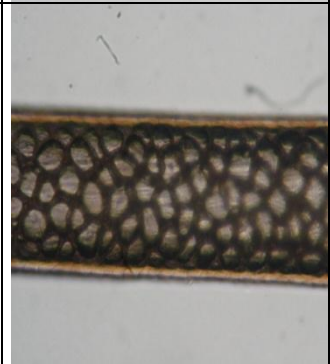
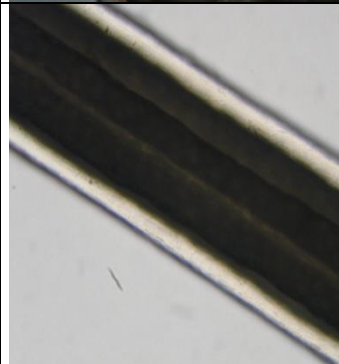

17


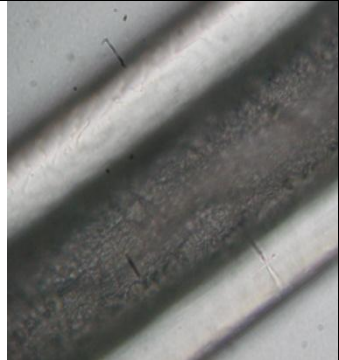
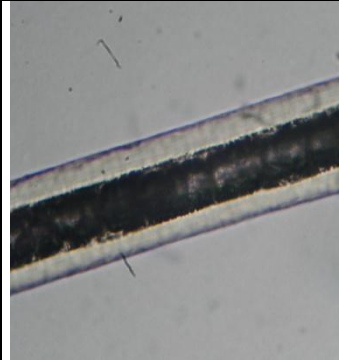
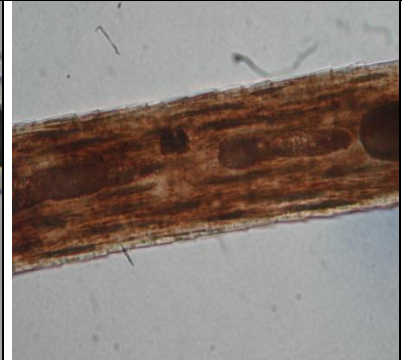


24



16					
15					
2	pecarí				

1					
9					
23					

11					
4	