

INFORME FINAL DEL PROYECTO

Análisis de algunos parámetros ecológicos de 2 vertebrados indicadores de conservación en el monte Tláloc.

Octavio Monroy Vilchis. Estación Biológica Sierra Nanchititla, Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma del Estado de México.

Introducción

Existen varias especies de animales vertebrados que por sus características biológicas son más propensos a extinguirse localmente cuando los ambientes son perturbados o modificados por el hombre (Primack 1995). Algunas de estas características que comparten *Ambystoma leorae* y *Lynx rufus* son: requerimientos específicos de hábitat (alimento, espacio), baja proporción de individuos reproductivos, ambos son capturados o cazados por el hombre. Cuando éste último irrumpe en el ambiente natural, transforma características de los ambientes acuáticos como el pH, la materia orgánica (cantidad y calidad) y esto modifica las condiciones que necesita *A. leorae*. Por otro lado, la deforestación provoca que disminuya la cobertura forestal así como las presas de *L. rufus*; de tal manera que la abundancia y densidad de ambas especies se modifican con la presencia del hombre en los ecosistemas naturales.

El monte Tláloc se ubica en la frontera del Estado de México con Puebla. Forma parte de la sierra nevada en el valle de México, presenta una altitud de 4130 msnm y está incluido dentro del parque nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl-Zoquiapan. Debido a lo anterior se considera un reservorio importante de recursos naturales como agua así como una zona clave para captura de carbono y producción de oxígeno (Sánchez-Trejo *et al* en prensa). Debido a su proximidad con la capital del país y con la zona urbana que la rodea, se estima que el impacto sobre la biodiversidad local es elevado. De manera que se ha generado fragmentación de las zonas naturales y con ello la disminución de las poblaciones de especies e incluso la desaparición (extinción local) de algunas. Otra característica importante de esta zona es la ocurrencia de endemismos y debido a ello, la región es considerada importante para la conservación a nivel nacional (Ramírez-Bautista *et al.* 2009).

Durante un estudio previo de biodiversidad del monte Tláloc se encontró que la herpetofauna está compuesta por 25 especies de anfibios y reptiles que representan el 37% de las especies mencionadas para el valle de México (Monroy-Vilchis *et al.* 2012). Entre las especies colectadas cabe resaltar la presencia del escorpión (*Barisia imbricata*) y el ajolote (*Ambystoma leorae*; Monroy-Vilchis *et al.* 2014), así como la presencia del lince (*Lynx rufus*). Debido a características biológicas de estas especies pueden ser consideradas como indicadoras de calidad del hábitat.

Ambystoma leorae es endémica de la Sierra Nevada de México y se encuentra en peligro de extinción (SEMARNAT 2010), debido a lo anterior es recomendable realizar estudios sobre la diversidad genética, ya que ésta constituye un aspecto clave y fundamental en las estrategias de conservación. Al ser una forma de organización de la biodiversidad, la variabilidad genética, debe

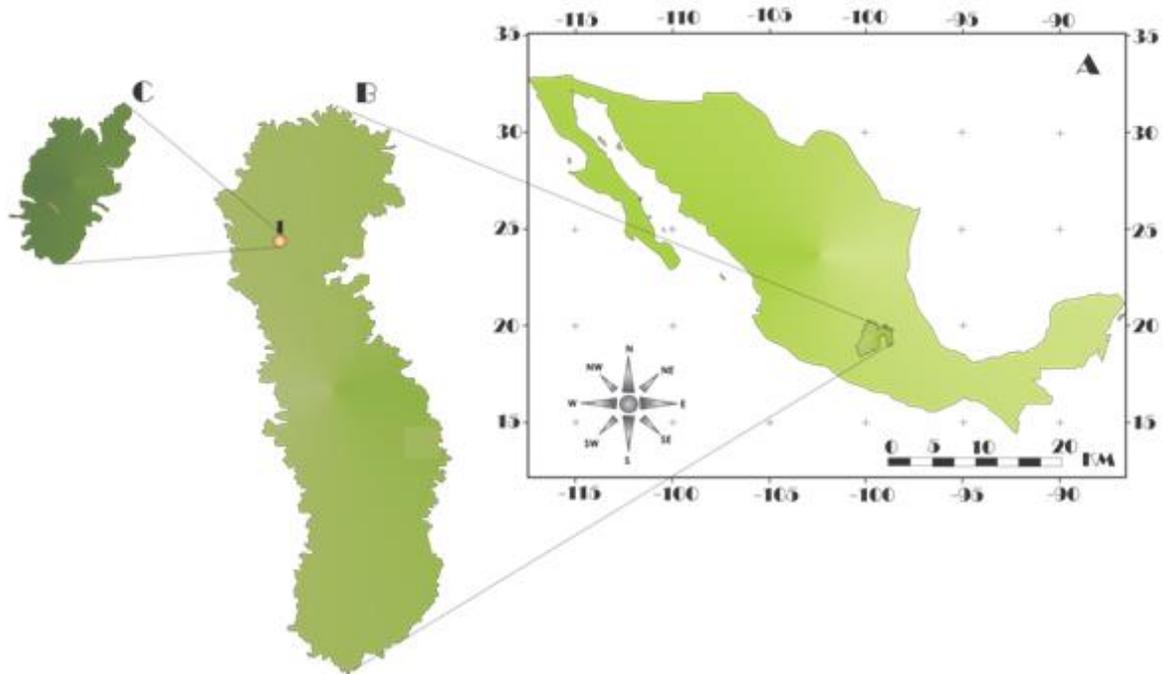
considerarse en los planes de conservación ya que es esencial para poder garantizar la permanencia de una especie a largo plazo (Vázquez-Domínguez y Vega 2006).

La variabilidad genética está directamente relacionada con la capacidad reproductiva de los organismos y con su potencial de adaptación a diferentes condiciones bióticas y abióticas, ya sea enfermedades, parásitos, depredadores y competidores, efecto invernadero, perturbación ambiental, entre otros.

Mientras que el lince, en la zona es el depredador de mayor tamaño y también su población está seriamente amenazada. De esta especie, se tienen pocos registros publicados sobre su ecología trófica, este es un parámetro esencial para entender las relaciones entre depredadores y presas y puede aportar elementos importantes para acciones de manejo y conservación regionales. Cabe hacer mención que en la zona se tienen registros indirectos de un depredador de mayor talla (*Puma concolor*), y mediante el muestreo sistemático durante un año se espera que se confirme su presencia.

Área de estudio

El Monte Tláloc se localiza en los límites del Estado de México, colinda con los estados de Puebla y Tlaxcala. Con sus 4,125 msnm, constituye una de las principales elevaciones del Sistema Volcánico Transmexicano, uno de los más activos del mundo (Gasca-Pliego 2012).



(Sunny *et al.* 2013)

Esta área es prioritaria para la conservación debido a su alta riqueza de ecosistemas donde se presentan diversos endemismos, existiendo 26 especies de anfibios y reptiles, 46 de aves y 38 de

mamíferos (Monroy- Vilchis *et al.* 2012). Presenta un clima templado subhúmedo, con verano corto en la mayor parte del territorio, pero que se alarga en las regiones por debajo de los 3,500 msnm; presenta un régimen de lluvias concentrado en verano, la temperatura del mes más cálido excede los 18° C y la del mes más frío es ligeramente superior a 0°C (Franco *et al.* 2012). Alberga 6 tipos de vegetación: encinar arbustivo, bosques de encino, bosque mixto, bosque de oyamel, bosque de pino y pastizal alpino (López- Mata y Sánchez-González 2003).

Material y método

Se realizaron salidas mensuales con duración de 4 días durante un año a la zona de estudio, se aplicaron diferentes métodos de acuerdo a la especie analizada:

Ambystoma leorae. Se colectaron organismos con redes y manualmente. A cada individuo se le tomaron datos merísticos estándares para anfibios, longitud total (LT), longitud hocico cloaca (LHC), longitud de la cola (LC), alto cola (AC), ancho cabeza (ACa), largo cabeza (LCAB), diámetro inter axial (DIA), largo pata izquierda (LPI) y pliegues costales (PC), el peso. Finalmente y obtuvo tejido por ectomización de 2mm² de cola, preservándose en etanol al 90% a -20°C. Asimismo se tomaron características ambientales como: coordenadas geográficas, altitud sobre el nivel del mar, pendiente, temperatura del aire, temperatura del agua, pH del agua, oxígeno disuelto en el agua, profundidad del río, ancho del río, tipo de vegetación en el río, presencia de artrópodos, sustrato del río, tipo de perturbación humana.

Se extrajo el DNA según las especificaciones del kit comercial DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN^{MR}). La integridad del DNA se observó por medio de geles de agarosa al 1.5% y teñidos con bromuro de etidio a 0.5µg/ml y luz UV. Se utilizaron once pares de oligonucleótidos de microsátelites (Parra-Olea *et al.* 2007; Mech *et al.* 2003). Marcados con fluorescencia, la secuenciación se realizó por un laboratorio comercial (Roy. J. Carver Biotechnology Center de la Universidad de Illinois, USA). El tamaño de los alelos se obtuvo con el Software GeneMapper[®] 4.0 (Applied Biosystems) y con diferentes software se determinó el número de poblaciones presentes, se estimó y graficó las frecuencias de los alelos en cada locus y se identificó los alelos privados por locus, se analizó la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg con su coeficiente de endogamia, el desequilibrio de ligamiento, las frecuencias alélicas, los genotipos observados y las distribuciones alélicas, se calcularon los estadísticos de *F* de Wright: *FIS*, *FST*, y *FIT*. También se estimó el *RST*, análogo de la *FST* desarrollado por Slatkin (1995), se obtuvo la diversidad genética *no*, *ne*, *Ho* y la *He* según Levene (1949), la heterocigosidad esperada no sesgada de Nei (*HNEI*) (Nei, 1972), se estimó el flujo génico presente entre las poblaciones y/o la población. El número efectivo de migrantes total a partir de *RST* y *FST* (Gaggiotti *et al.* 1999; Allendorf y Luikart 2007), se calculó la distancia de Nei (DN) (Nei 1972; Reynolds *et al.* 1983), se realizó una matriz de distancias genéticas con la que se construirá un árbol de Neighbour-Joining (N-J), se realizó una prueba de varianza molecular (AMOVA). Un análisis para detectar cuellos de botella, se estimó el número efectivo (*Ne*), se estimó la relación de parentesco entre individuos (Blouin 2003). Se realizaron análisis bayesianos y multivariados para evaluar la relación entre la distancia genética basada en *FST* y las barreras genéticas (características del paisaje) para conocer que factor ambiental está

influyendo en la diferenciación genética (Corander *et al.* 2003; Clarke y Gorley 2001). Adicionalmente se aplicará una prueba de índice de uso de hábitat para identificar las características ambientales importantes para la presencia de las especies.

Lynx rufus: se colectaron excrementos a lo largo de tres trayectos, los excrementos se identificaron por características morfológicas (Aranda 2012) y posteriormente será corroborada la identificación por medio de análisis químicos (ácidos biliares) en el laboratorio. Posteriormente, se procesaron las muestras para obtener los componentes de los excrementos que se agruparon en huesos, pelos, escamas, plumas, entre otros. La importancia de las especies en la dieta se analizará a través de frecuencia de aparición, así como porcentaje de ocurrencia y biomasa relativa consumida. Se obtendrá además el nicho trófico del lince usando el índice de Levin's. Se comparan los hábitos del lince de esta zona con poblaciones de otras áreas de distribución.

Resultados y discusión

Todos los resultados de *Ambystoma leorae* están detallados y especificados en 3 artículos en revistas indizadas y de alto impacto internacional (se anexan pdf).

a). Sunny A., **Monroy-Vilchis O**, Fajardo V. and Aguilera-Reyes. 2014. Genetic diversity and structure of an endemic and critically endangered stream river salamander (Caudate: *Ambystoma leorae*) in Mexico. Conservation Genetics, 15: 49-59.

b). Sunny A., **Monroy-Vilchis O.**, Reyna-Valencia, C., Zarco-González M.M. 2014. Microhabitat types promote the genetic structure of micro-endemic and critically endangered mole salamander (*Ambystoma leorae*) of Central Mexico. PLoS ONE 9(7): e103595. Doi: 10.1371/journal.pone.0103595.

c). **Monroy-Vilchis O.**, Zarco-González M. M., Domínguez-Vega H. y Sunny A. 2014. *Ambystoma leorae* (Taylor, 1943). New records, natural history notes and Threat status. Herpetozoa, 27 (3/4).

Con respecto a *Lynx rufus*, aún se está trabajando en el artículo sobre el tema y a continuación se presentan los resultados más sobresalientes:

Se colectaron 96 excrementos atribuidos a lince. Se encontraron 16 especies presa de las cuales 95.53% pertenecen a la clase Mammalia, 3.57% a la clase Aves y 0.89% a la clase Reptilia, en cuanto a los mamíferos los órdenes Rodentia y Lagomorpha fueron los de mayor abundancia con un 51.78% y 33.92% respectivamente. El aporte de los órdenes anteriormente mencionados se debe principalmente al porcentaje de aparición de *Microtus mexicanus* con un 39.28%, *Sylvilagus floridanus* con 15.17% y *Sylvilagus cunicularius* con un 12.5%, las cuales representan el 66.96% de la dieta. Para conocer la amplitud del nicho se utilizó y estandarizó el índice de Levin's (Krebs con un resultado de 0.26, que indica que es una especie de hábitos especialista. La información anterior se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Se presenta la Frecuencia de aparición (FA), porcentaje de aparición (PA) Índice de Levin's, porcentaje de biomasa ingerida (%) por especie consumida por *L. rufus*, mismas que se agrupan en familia y orden.

MAMMALIA	FA (n=117)	p (n=117)	p ² (n=117)	FO (n=117)	PA (n=117)	BI (g (n=117)
Carnivora						
Canidae						
<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	1	0.0073529	5.4066E-05	0.85470085	0.73529412	1.5
Procyonidae						
<i>Procyon lotor</i>	1	0.0073529	5.4066E-05	0.85470085	0.73529412	5.1
						Total carnívoros 6.6
Lagomorpha						
Leporidae						
<i>Sylvilagus floridanus</i>	25	0.1838235	0.03379109	21.3675214	18.3823529	71.8
<i>Sylvilagus cunicularius</i>	18	0.1323529	0.0175173	15.3846154	13.2352941	62.3
<i>Romerolagus diazi</i>	4	0.0294118	0.00086505	3.41880342	2.94117647	27.7
<i>Sin identificar</i>	3	0.0220588	0.00048659	2.56410256	2.20588235	13.3
						Total lagomorfos 175.
Rodentia						
Muridae						
<i>Baromys taylori</i>	1	0.0073529	5.4066E-05	0.85470085	0.73529412	
<i>Microtus mexicanus</i>	51	0.375	0.140625	43.5897436	37.5	237.
<i>Peromyscus difficilis</i>	1	0.0073529	5.4066E-05	0.85470085	0.73529412	2.8
<i>Neotoma mexicana</i>	3	0.0220588	0.00048659	2.56410256	2.20588235	
<i>Peromyscus sp.</i>	5	0.0367647	0.00135164	4.27350427	3.67647059	15.7
<i>Sin identificar</i>	5	0.0367647	0.00135164	4.27350427	3.67647059	3.7
Geomyidae						
<i>Cratogeomys merriami</i>	1	0.0073529	5.4066E-05	0.85470085	0.73529412	3.5

<i>Sin identificar</i>	2	0.0147059	0.00021626	1.70940171	1.47058824	23.0
						Total roedores 286.
Artiodactyla						
<i>Capra hircus</i>	5	0.0367647	0.00135164	4.27350427	3.67647059	11.7
						Total artiodactyla 11.7
Mamífero sin identificar	4	0.0294118	0.00086505	3.41880342	2.94117647	17.3
						Total mamíferos 496.
REPTILIA						
Squamata						
<i>Barisia imbricata</i>	2	0.0147059	0.00021626	1.70940171	1.47058824	1.5
						Total reptiles 1.5
AVES						
Sin identificar	4	0.0294118	0.00086505	3.41880342	2.94117647	9.0
						Total aves 9.0
TOTAL	136	1	0.20025952	116.239316	100	507.
Amplitud	B=	4.9935205		No. especies	18	
Ind. Nicho estd Levins	B=	0.234913		No. excretas	117	

Conclusiones

Ambystoma leorae presenta alta diversidad genética, pero representada por pocos alelos, situación que lo pone en alto riesgo de extinción. Además, presenta 3 subpoblaciones que están relacionadas con diferentes características ambientales.

Lynx rufus se alimenta principalmente de mamíferos donde destaca un roedor *Microtus mexicanus* y un lagomorfo *Sylvilagus floridanus* como las especies más consumidas.

Literatura citada

- Allendorf FW. y Luikart G. 2007. Conservation and the Genetics of Populations. Blackwell, Malden, MA.
- Aranda M. 2012. Manual para el rastreo de mamíferos silvestres de México. CONABIO. México, D.F. 255 pp.
- Blouin MS. 2003. DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends Ecol Evolut* 18: 503–511.
- Corander J., Waldmann P., Sillanpää MJ. 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics* 163: 367–374.
- Clarke KR. y Gorley RH. 2001. PRIMER version 5: User Manual/Tutorial. Primer-e, Plymouth.
- Gasca-Pliego E. 2012. El proyecto Monte Tláloc. En: Franco S (Coord.). 2012. Monte Tláloc II la casa del dios del agua. Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- Gaggiotti OE., Lange O., Rassmann K. y Gliddons C. 1999. A comparison of two indirect methods for estimating average levels of gene flow using microsatellite data. *Mol. Ecol.*, 8, 1513–1520.
- Krebs C. 1989. *Ecological Methodology*. HarperCollins Publishers. New York, U.S.A. 654 pp.
- Levene H. 1949. On a matching problem in genetics. *Ann. Math Stat.* 20:91–94.
- López- Mata L. Sánchez-González A. 2003. Clasificación y ordenación de la vegetación del Norte de la Sierra Nevada a lo largo de un gradiente altitudinal. *Anales del Instituto de Biología. Serie botánica*, 74(1): 47-71.
- Franco S. (Coord.). 2012. Monte Tláloc II la casa del dios del agua. Universidad Autónoma del Estado de México. México. 222 pp.
- Mech SG., Storfer A., Ernst JA., Reudink MW. y Maloney SC. 2003. Polymorphic microsatellite loci for tiger salamanders, *Ambystoma tigrinum*. *Molecular Ecology Notes*, 3, 79–81.
- Monroy-Vilchis O., Zarco-González M.M. y Domínguez-Vega H. 2012. Los verdaderos habitantes del Monte Tláloc. En: Franco S. (Coord.). 2012. Monte Tláloc II la casa del dios del agua. Universidad Autónoma del Estado de México. México. Pag. 111- 136.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat* 106:283–292.
- Parra-Olea G., Recuero E., Zamudio KR. 2007. Primer note: polymorphic microsatellite markers for Mexican salamanders of the genus *Ambystoma*. *Mol. Ecol. Notes* 7: 818–820.
- Primack R. 1995. *A primer of conservation biology*. Sinauer Associates Inc. Massachusetts, U.S.A. 277 pp.
- Reynolds J., Weir B. S., y Cockerham C. C. 1983. Estimation for the coancestry coefficient: Basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767–779.

SEMARNAT 2010. Norma oficial mexicana 059. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.

Siatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139: 457-462.

Sunny A., Monroy-Vilchis O., Fajardo V. y Aguilera-Reyes U. 2014. Genetic diversity and structure of an endemic and critically endangered stream river salamander (Caudate: *Ambystoma leorae*) in Mexico. *Conservation Genetics*, 15: 49-59.