

NUNEZ, MARIA BEATRIZ
Ecologia nutricional



2013 72650

72650

M.F.:
Clasif:
T. 307

1000

1000

1000

72650



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES



ECOLOGÍA NUTRICIONAL DE *Lycalopex griseus*

TESIS PARA ACCEDER AL TÍTULO DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESISTA: LIC. MARIA BEATRIZ NUÑEZ

DIRECTOR: DR. ANTONIO M. MANGIONE

CO-DIRECTOR: DR. JAIME POLOP

2013

RESUMEN

Entre los carnívoros, existen especies que alternan la ingestión de recursos de origen animal con la ingesta de vegetales. Resultan llamativos entonces, los mecanismos fisiológicos y conductuales que les permiten a estas especies obtener el mejor provecho de estas dietas. *Lycalopex griseus* (zorro gris chico) es un carnívoro omnívoro que habita ambientes semiáridos y presenta una dieta mixta (ítemes de origen animal y vegetal). Este trabajo propone estudiar, dentro del marco teórico ofrecido por la ecología nutricional, las relaciones existentes entre las características nutritivas del recurso alimentario, su abundancia y su uso por *L. griseus*. Se determinó la abundancia de biomasa y el contenido nutricional (proteína, agua, lípidos) en el ambiente de los ítemes presentes en la dieta [mamíferos, insectos, gramíneas, frutos de arbustos (*Prosopis torquata*) y distintas especies de cactus], en las estaciones seca y húmeda, según régimen de precipitaciones. Se capturaron 6 zorros y se los mantuvo en semi cautiverio. Se les ofrecieron dietas con diferentes contenidos en fibra detergente neutra (FDN), para determinar la digestibilidad de nutrientes como nitrógeno. También se realizaron ensayos con cactus como recurso hídrico y por último, un ensayo exploratorio en el laboratorio con frutos de *P. torquata* utilizando ratas de laboratorio para determinar la acción fitoestrogénica de frutos de esta especie. Los resultados obtenidos, mostraron una variación estacional en la dieta, pero no en la abundancia de los diferentes recursos en el ambiente. Esto podría sugerir, una estrategia alimentaria de complemento nutricional, a partir de la cual obtendrían proteína a partir de fuentes variadas, como mamíferos e insectos. Con respecto a los experimentos relacionados con FDN, *L. griseus* asimila entre el 60% y el 97% del nitrógeno disponible en la dieta dependiendo de proporción de fibra o el tipo de abundancia del nitrógeno en la dieta. Las variaciones observadas indican un efecto de la fibra sobre el balance del nitrógeno e inclusive, un efecto de tipo negativo sobre la masa corporal de los animales, sin embargo, la fisiología del zorro no fue severamente afectada. Se determinó el tiempo de retención en las dietas con diferentes FDN, observándose un tiempo de retención menor para dietas con alto contenido en FDN. En relación a los experimentos realizados con cactus, éstos no fueron consumidos aun cuando la restricción hídrica (sin acceso a agua libre o preformada en el alimento) se prolongara por 9 días consecutivos. Los análisis de tipo exploratorio realizados con los frutos de *P. torquata*, mostraron variaciones morfológicas y funcionales en los ovarios de ratas alimentadas con estos frutos. Se concluye que, *L. griseus* consume los ítemes de mayor valor nutricional independientemente de su abundancia, es capaz de digerir nitrógeno aun cuando el consumo de FDN es alto y el tiempo de retención es menor. Los frutos de *P. torquata*, presentan una acción fitoestrogénica en ratas y no se descartaría la posibilidad que la ingesta de estos frutos, en mamíferos silvestres, presentes una acción similar. *L. griseus* posee cierta resistencia a la privación de agua. En síntesis, la omnivoría de tipo trófica de *L. griseus* lo es en tanto ingiere una variedad de ítemes diferentes en términos morfológicos o taxonómicos. La principal fuente de ingreso de energía es evidentemente, la proteína animal proveniente de otros mamíferos o insectos. Por lo que, desde el punto de vista fisiológico y nutricional, se comporta como un carnívoro, aunque no estricto en lo conductual. No se descarta que la ingesta de materia vegetal en situaciones de contingencia, contribuyan a garantizar la sobrevivencia en condiciones de extrema sequía o largos periodos de escasez de su principal recurso alimenticio, las proteínas.

ABSTRACT

Among carnivores, there are different species which alternate the ingestion of animals with the ingestion of plants. There are many physiological and behavioral mechanisms that allow these species to obtain a better turnover from these diets. *Lycalopex griseus* (South American grey fox) is a carnivore-omnivorous mammal inhabiting semiarid environments. Its diet is composed of animals and plant items. In this thesis we proposed to study, within the field of nutritional ecology, the relationships among the nutritional characteristics of the alimentary resource, abundance and its use by *L. griseus*. It was determined that the abundance of biomass and the nutritional content (proteins, water, lipids) of food items (mammals, insects, grass, fruits (*Prosopis torquata*)), during both the dry and wet season. Six foxes were captured and kept in semi captivity. Different artificial diets with different content of neutral detergent fiber (NDF) were given to determine the digestibility of fiber and other nutrients like nitrogen. Also experimental assays were done using cactus to test if they were used as water source. A final exploratory experiment was carried out, to determine whether fruits of *P. torquata* can act as phytoestrogens in Wistar rats in the lab. Results show that there were differences in diet composition but not in food abundance. This could suggest that foxes may complement their nutrition by obtaining protein from different sources, such as mammals and insects. Regarding NDF experiments, *L. griseus* assimilates between 60% and 90% of the nitrogen available in the diet. The observed variations indicate an effect of fiber over the nitrogen balance and even a negative effect over body mass. However the fox physiology was not severally affected. It was determined the retention time was lower with high contents of NDF. Regarding cacti as water source, they were not eaten even after 9 days of water restriction (no access to free water or preformed in the food). The exploratory analyses performed with *P. torquata* fruits on Wistar rats indicate that there are variations in function and morphology of ovaries of rats fed with *P. torquata* fruits. *L. griseus* consume food resources with the highest nutritional value independently of their abundance, it is able to digest nitrogen even when NDF content is high and retention time is reduced. The *P. torquata* fruits present a phytoestrogenic action in rats. We do not reject the possibility that consumption of fruits of *P. torquata* may have similar effect. *L. griseus* exhibit resistance to water deprivation. Finally the omnivory of *L. griseus* is a trophic one, because the diversification of diet in this species is related to morphology or taxonomy. The main source of energy intake is animal protein coming from mammals and insects. That is why from the nutritional and physiological point of view the fox behaves like a carnivore but not as strictly when feeding behavior is considered. It is not discarded that the ingestion of plant items by *L. griseus* may be related to specific situations in the wild, and may contribute to guarantee their survival in extreme dryness conditions or for long periods of lack of proteins their main food resource.

AGRADECIMIENTOS

Al sistema de educación público y gratuito de Argentina, que más allá de los errores que puede tener, permite que todos tengamos la oportunidad de estudiar y trabajar en lo a cada uno elige.

A la Universidad Nacional de San Luis, a CONICET y a la Universidad Nacional de Río IV.

A Antonio Mangione por todos estos años de trabajo en conjunto, por la confianza y el apoyo. A Jaime Polop por su excelente predisposición durante todo el trabajo. A la comisión de Seguimiento por sus valiosas sugerencias.

A mi abuelo Manuel, mi mamá, mi papá y mis abuelas, Carmen e Ida, quienes están incondicionalmente siempre, por el amor, la compañía y la paciencia. A Florencia, mis tías Beatriz, Porota y Sully, mis primos y sobrinos, por su gran cariño y muestras de interés por lo que elegí.

A Mariano por estar a mi lado estos últimos años, cuidarme y proyectar una vida juntos, y por agrandar la familia.

A Jimena, mi compañera, amiga, hermana, por enseñarme y acompañarme durante tantos años, por ayudarme en la facultad, en el campo y en la vida. Junto a Celina, fueron fundamentales en esta gran etapa. También Analía, Luci, Lucre, Iara y Guada, por su cariño y apoyo.

A Euge, amiga incondicional, por escucharme, contenerme, por las charlas y mates compartidos, por trabajar juntas. A Abel y Lucila.

A Cecilia Pérez por su amistad y compañía durante los meses de trabajo en el campo y después en la ciudad. A Kitty, Cata, Guille, Ricardo, Nadia y muchísimos chicos más, que me acompañaron durante las campañas. A Rodolfo Sarmiento por su gran ayuda con las jaulas y con los primeros intentos de las capturas. A Ivana, German, Ana por acompañarme en la preparación de las trampas. A Guido por su ayuda con inglés.

A Luciana y a Laura, por su confianza en mí para acompañarlas en la última etapa de su carrera de grado, por su compañía y buena onda.

A Margarito Moreira, Félix Pereyra, Félix Vera, Juan y María, Raúl, porque hicieron que mi estadía en el parque fuese muy agradable. A Raúl Lucero, Nancy y las chicas,

A Claudia, Franco, Mica, Carla y Katy por ayudarme y por brindarme todo su cariño y apoyo, por las tardes de mate en Quijadas.

A Don Guiñazú, Héctor Sturniolo y las chicas del laboratorio de Bromatología por enseñarme y permitirme utilizar el laboratorio.

A Liliana Merlo, por enseñarme y asistir a los zorritos. A Tinta, Viole, Tiru y Chompi, por sus muestras de cariño permanentes.

Queda mucha gente sin nombrar, pero Gracias!! a todos, porque un pedacito de esta Tesis se lo debo a cada uno de ustedes.

ÍNDICE

Resumen	i
Abstract	ii
Agradecimientos	iii
Índice	v

Capítulo I: Introducción general

Introducción	2
Objetivos	4
Materiales y métodos	6
Área de estudio	6
<i>Lycalopex griseus</i> : historia natural	9
Captura y mantenimiento de zorros	9

Capítulo II: Análisis estacional en la oferta de recursos tróficos y su consumo por parte de *Lycalopex griseus*

Introducción	19
Hipótesis y predicciones.....	21
Materiales y métodos	22
Recolección y análisis de las fecas.....	22
Recolección del material	22
Estimación de biomasa y nutrientes.....	24
Análisis estadísticos	25
Resultados	26
Composición de la dieta de <i>L. griseus</i>	26
Biomasa disponible del recurso trófico.....	27
Composición nutricional de los recursos tróficos	29
Discusión	33

Dieta y biomasa del recurso trófico	33
Componentes nutricionales del recurso trófico	34

Capítulo III: Efecto de diferentes contenidos de fibra en la digestibilidad de alimento, nitrógeno y FDN de *Lycalopex griseus*

Introducción	39
Hipótesis y predicciones.....	41
Materiales y métodos	42
Dietas con diferentes contenidos de fibra.	42
Diseños experimentales	42
Tiempo de retención.....	44
Experimento de variaciones en el consumo de dietas con diferentes contenidos en Nitrógeno (N)	44
Digestibilidad	45
Análisis estadísticos	46
Resultados	47
Experimentos con distintos contenidos de FDN.....	48
Experimento con dietas de diferente contenido en proteína.	54
Discusión	57

Capítulo IV: Utilización del recurso cactus para la obtención de agua preformada

Introducción	62
Hipótesis y predicciones.....	63
Materiales y métodos	65
Requerimiento mínimo de agua	65
Análisis estadísticos	65
Resultados	67
Discusión	68

Capítulo V: Actividad estrogénica del fruto de *Prosopis torquata* en ratas Wistar

Introducción	73
Hipótesis y predicciones.....	74
Materiales y métodos	75
Recolección del material	75
Preparación de la dieta	75
Tratamiento de los animales	75
Análisis histológico	76
Análisis estadístico.....	76
Experimento a campo con <i>L. griseus</i>	76
Resultados	78
Apertura Vaginal (AV)	78
Pesos de útero, oviductos y ovarios.....	79
Análisis histológico	79
Análisis morfológico	84
Discusión	85
Conclusiones generales	87
Perspectivas	90
Bibliografía	92

CAPÍTULO I

Introducción general

INTRODUCCIÓN

La historia evolutiva de los mamíferos está íntimamente relacionada con la dieta, la cual ha tenido profundas consecuencias en la macroevolución de este grupo tan diverso. Especies relacionadas entre sí, pueden presentar diferencias en su fisiología digestiva que se correlacionan con el tipo de alimentos que consumen, lo que aporta evidencias comparativas de que la fisiología digestiva evoluciona en paralelo con la dieta (Hill et al., 2006; Price 2012).

Las principales características de los mamíferos, tales como homeotermia y la dentición especializada, se relacionan con la diversificación de los grupos. En el caso de los herbívoros, este proceso de diversificación es más rápido que en carnívoros y más aún que en omnívoros. Por otra parte, el ritmo de las transiciones entre las estrategias tróficas es parcial. Sorprendentemente, las tasas de transición más altas entre estrategias se producen de la herbivoría y la carnivoría a la omnivoría, y las más bajas se producen entre los herbívoros y los carnívoros. Esto podría explicarse, ya que las adaptaciones fisiológicas y morfológicas entre herbívoros y carnívoros, requieren tiempos evolutivos muy extensos (Price et al., 2012).

Por otro lado los carnívoros son más vulnerables a los cambios en la abundancia del recurso, ya que alteraciones en las poblaciones de sus presas, actúan directamente sobre este grupo. Price et al., (2012), proponen que, ecológicamente, la omnivoría puede ser una estrategia para sobrevivir a la variabilidad y la abundancia de recursos alimenticios.

Son numerosos los trabajos realizados sobre carnívoros que presentan una dieta omnívora, algunos casos son extremos, como *Ailuropoda melanoleuca* (oso panda), en el cual se observa un consumo mayor al 95% de bambú (Sims et al., 2007; Sensu et al., 2007). Muchas especies de la Familia Canidae (*Lycalopex gymnocercus*, *Lycalopex griseus*, *Cerdocyon thous*, *Chrysocyon brachyurus*, entre otros), exhiben dietas en las que, frecuentemente, se observa más del 50% de frutos (Macfadem Juarez y Marinho-Filho, 2002; Luengos Vidal et al., 2003; Arruda Bueno y Motta-Junior, 2004; Nuñez y Bozzolo, 2006; Soler y Casanave, 2007; Birochio, 2008; Rocha et al., 2008; Varela et al., 2008; Luengos Vidal, 2009; Murdoch et al., 2009; Soler, 2009).

Para muchos carnívoros, que en general poseen altos requerimientos de nutrientes, tiempos de retención relativamente cortos, altas demandas energéticas, la ocupación de ambientes de baja abundancia o baja calidad del recurso alimenticio, puede ser detonante de un número variado de repuestas de evitación o resistencia a dichas condiciones. Estas repuestas pueden ser de tipo comportamental o fisiológicas. Entre las comportamentales pueden considerarse: la manipulación diferencial del alimento y la variación en los presupuestos de tiempos destinados al forrajeo. Entre las fisiológicas se pueden observar aquellas relacionadas con la flexibilidad y/o plasticidad en la asimilación y distribución de la energía (Robbins, 1993; Carey, 1996; Degen, 1997; Karasov y Martínez del Río, 2007).

La ecología nutricional es un campo de la investigación ecológica que estudia las relaciones entre los requerimientos nutricionales de los animales y el valor nutricional de la fuente de alimento, pero también los factores bióticos (por ejemplo, los depredadores y parásitos) y abióticos (la temperatura, el fotoperíodo) son componentes relevantes. Se tiene en cuenta la forma en que responden los organismos al ambiente ecológico: las repuestas fisiológicas y comportamentales, la plasticidad fenotípica (ej. morfología intestinal), el desarrollo, la historia natural y la adaptación en una escala de tiempo evolutiva (Robbins, 1993; Raubenheimer et al., 2009).

Los vacíos en el conocimiento sobre la ecología nutricional de vertebrados del desierto, están relacionados con la carencia de datos específicos sobre las capacidades máximas de los individuos para la ingestión y digestión de fibra y proteínas, la tolerancia a metabolitos secundarios de plantas, entre otros. Las capacidades máximas o límites fisiológicos para el procesamiento de alimentos y los requerimientos mínimos por nutrientes, contribuyen a la comprensión de la tolerancia a las variaciones en la calidad y abundancia del recurso. Sin lugar a dudas el conocimiento de la fisiología de los animales, ocupa un lugar preponderante (Townsend y Calow, 1981; Robbins, 1993; Degen, 1997; Karasov y Martínez del Río, 2007). Es de crucial importancia estudiar en forma integrada parámetros, como la abundancia de un recurso y su relación con diferentes capacidades o limitantes fisiológicas del animal, de manera de obtener información que permita determinar que componentes del ambiente o del organismo estudiado, afectan el uso del recurso y del hábitat (Carey, 1996).

Con lo mencionado anteriormente, conocer las respuestas comportamentales y fisiológicas de *Lycalopex griseus*, permitiría ampliar el conocimiento sobre los cánidos, que enfrentan diversas condiciones relacionadas con la calidad y abundancia del recurso alimenticio, el uso del ambiente y su distribución en relación a los nutrientes. Por otro lado, el abordaje de cánidos de hábito omnívoro constituye un tema central en la ecología nutricional de vertebrados, por cuanto abre interrogantes sobre la plasticidad fisiológica y comportamental de los animales frente a recursos de calidad nutricional diversa. Se propone en esta tesis doctoral, preguntas centrales sobre la ecología nutricional de *L. griseus*, en un ambiente semi desértico, de manera de establecer un cuerpo de conocimiento que permita determinar las limitantes fisiológicas de esta especie que podrían condicionar el uso del ambiente, su distribución en relación a los nutrientes, establecer a mediano plazo pautas de manejo y avanzar en el conocimiento básico.

Objetivos

El objetivo principal de esta tesis es, establecer dentro del marco teórico ofrecido por la ecología nutricional, la relación existente entre las características nutritivas del recurso alimenticio, la abundancia y su uso por *Lycalopex griseus*, en un ambiente semi árido.

A partir del conocimiento sobre los ítemes que están presentes en la dieta de *L. griseus*, se propone reunir información sobre la abundancia y el valor nutricional del recurso alimenticio, en dos estaciones, seca y húmeda, definidas en función de la precipitación acumulada. De esta forma se evaluará si los ítemes que aparecen en la dieta en una estación determinada son aquellos que se encuentran en mayor abundancia o aquellos que poseen un valor nutricional comparativamente alto (Capítulo II). Con los datos aportados a nivel de composición química de los recursos consumidos, se realizarán experimentos para determinar la digestibilidad del alimento, del nitrógeno y de la fibra, frente a dietas con altos contenidos en fibra. También, se propone conocer la respuesta frente a dietas con diferentes contenidos en proteína (Capítulo III) En ambientes semi áridos, el agua es un nutriente importante, teniendo en cuenta que los cactus son consumidos por estos cánidos (Nuñez y Bozzolo, 2006), se propone evaluar si con la ingestión de cactáceas, los requerimientos de agua están cubiertos (Capítulo IV). Por último, en el Capítulo V, se propone analizar el papel de

los frutos de *Prosopis torquata* como disruptores estrogénicos o potencial actividad fitoestrogénica. El enfoque propuesto para este capítulo es de tipo exploratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

Área de estudio

El área de estudio está enmarcada por los límites del Parque Nacional Sierra de las Quijadas, el cual se ubica a 116 km al noroeste de la Ciudad de San Luis, en la localidad de Hualtarán, ubicada en los departamentos Belgrano y Ayacucho (Fig 1.1) La superficie total incluye el área comprendida entre los 32° 25' y 32° 44' de latitud sur y los 67° 17' y 66° 58' de longitud oeste, límites establecidos en la ley de creación. La reserva provincial que actúa como área de amortiguación, se extiende por el norte hasta los 32° 28' y por el sur hasta los 32° 55', en tanto que al este se extiende hasta los 66° 52' (Maero et al., 2007). Constituye una de las zonas más áridas de la provincia, 250 mm anuales aproximadamente, teniendo su máximo en enero (Peña Zubiarte et al., 1998). En el Parque, se realizaron mediciones de las precipitaciones observándose una precipitación anual de 310 mm anuales, pudiendo estimarse precipitaciones cercanas a 50 mm en la estación seca (abril, mayo, junio, julio, agosto, septiembre, octubre) y 350 mm en la estación húmeda (noviembre, diciembre, enero, febrero, marzo). Maero et al., (2007), mencionan que el área se caracteriza por su acentuada amplitud térmica, tanto estacional como diaria. El promedio anual de temperaturas máximas registradas entre los años 1961 y 1970, que es donde se tienen registros meteorológicos, es de 24,4 °C y el de mínimas 10,7 °C, siendo la amplitud térmica media de 13,7 °C. Los registros de temperatura tomadas en el Parque, durante los últimos años, muestran una máxima de 26,3 °C y una mínima de 13,3 °C. Es importante destacar que para toda la provincia de San Luis, y en especial para este área, la evapotranspiración potencial es en todos los casos superior al promedio de precipitaciones. El déficit de las mismas es bastante grande y alcanza su valor máximo en marzo mientras el mínimo corresponde a junio y julio. Esto se explica porque los meses más fríos son los de mayor nubosidad y por lo tanto, de menor evapotranspiración (Haene y Gil, 1991, Maero et al., 2007).

El Parque se sitúa en un ecotono entre las Provincias Fitogeográficas del Chaco y del Monte, ambas pertenecientes al Dominio Chaqueño de la Región Neotropical (Cabrera y Willink, 1980). Dentro de los arbustales se encuentran muchas formaciones típicas de la provincia biogeográfica del Chaco, como quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*), acompañado por otras especies como el algarrobo negro (*Prosopis flexuosa*), albaricoque (*Ximenia americana*), retamo (*Bulnesia*

retama), la brea (*Cercidium praecox*), el chañar; y entre los arbustos, la pichana (*Cassia aphylla*), el matorral (*Prosopis sericantha*), el tintitaco (*Prosopis torquata*) el retortuño (*Prosopis strombulifera*), el cardoncito (*Cereus aethiops*) y la penca (*Opuntia sulphurea*). La provincia fitogeográfica del Monte se caracteriza por la dominancia de zigofiláceas arbustivas como jarillales (*Larrea divaricata*, *L. cuneifolia*), asociadas con zampales (*Atriplex zampa*), el atamisque (*Capparis emarginata*) (Foto 1.1) (Cabrera, 1976; Cabrera y Willink, 1980; Haene y Gil, 1991; Maero et al., 2007).

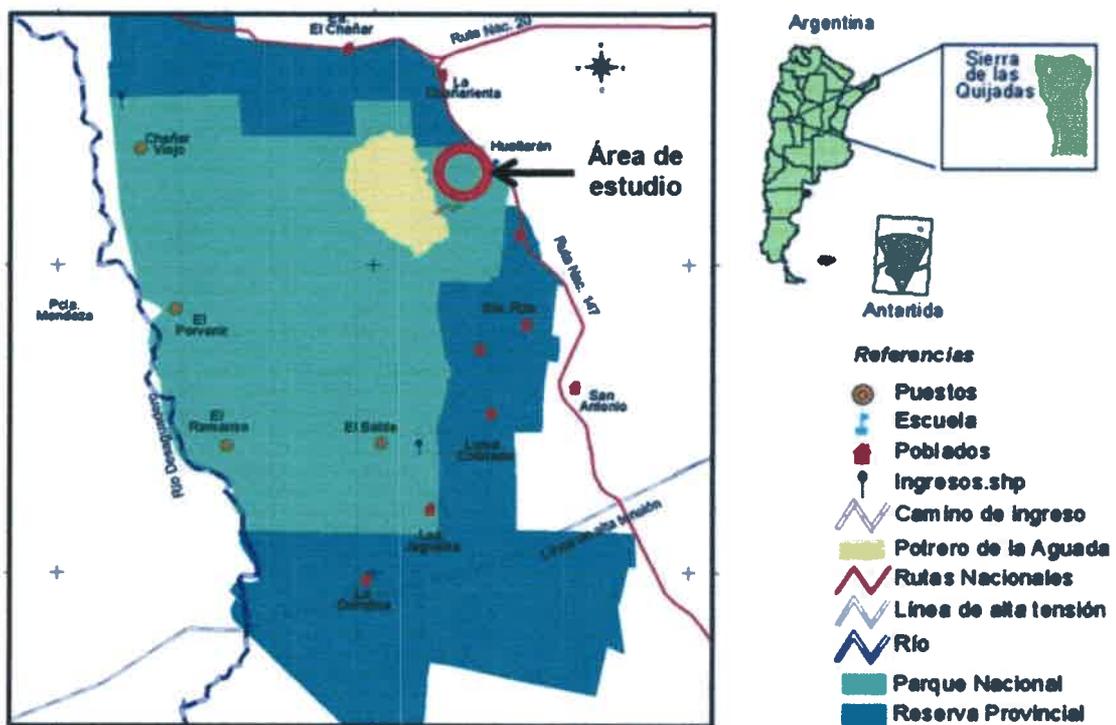


Fig. 1.1: Ubicación del Parque Nacional Sierra de las Quijadas, provincia de San Luis, Argentina. Imagen extraída de www.parquesnacionales.gov.ar.

Introducción general



Foto 1.1. a- *Prosopis torquata*, b- ambiente de jarillas

***Lycalopex griseus*: historia natural**

Lycalopex griseus (zorro gris chico), es un cánido pequeño, de entre 2,5 y 4,5 kg de peso y 40 a 60 cm de longitud, sin incluir la cola que añade otros 30 cm. El período de gestación dura entre 53 y 58 días, tras los cuales nacen entre 4 y 6 cachorros en una guarida que puede ser una cueva o una depresión protegida. Presentan un comportamiento monógamo, en algunos casos se observa la presencia de hembras "asistentes". Durante los primeros tres o cuatro días, la hembra se queda junto a las crías y el macho la provee de alimento. El tiempo invertido en el cuidado de los cachorros es equivalente por parte de ambos padres. La madurez sexual se completa aproximadamente al año de edad. Excepto en la época de celo y reproducción, son individuos solitarios, el home range varía entre $2.0 \pm 0.2\text{km}^2$ (polígono mínimo convexo) (González del Solar y Rau, 2004).

Su distribución geográfica ocupa una franja a ambos lados de la Cordillera de los Andes y abarca fundamentalmente Argentina y Chile, desde el paralelo de 17° S hasta el de 54° S (Tierra del Fuego). En Argentina, se encuentran en las regiones semiáridas del país, desde Jujuy hasta Tierra del Fuego y desde las pendientes orientales de la cordillera de los Andes hasta la costa atlántica. Presente en las siguientes provincias: Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero, La Rioja, San Juan, Mendoza, oeste de San Luis, Neuquén, oeste de La Pampa, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. Este grupo de cánidos, prefiere ambientes abiertos como dunas, arbustales y valles (Johnson y Franklin, 1994, González del Solar y Rau, 2004, Novaro et al., 2004).

Captura y mantenimiento de zorros

Se solicitaron los permisos correspondientes a la Jefe del Programa de Recursos Naturales de la provincia de San Luis, Dra. Nancy del Castillo, los cuales fueron otorgados. Las tareas de captura de los zorros, comenzaron la primera semana de noviembre de 2007, en la localidad de Hualtarán, a 120 km de la ciudad de San Luis. Primero, se utilizaron 3 trampas-jaulas las cuales presentan las siguientes dimensiones: 120 cm ancho x 120 cm alto x 100 cm largo. Se las ubicó entre el monte, en lugares donde se observaba la presencia de zorros, huellas, heces. Las trampas fueron cebadas con carne cruda, con carne asada, pollitos, gallinas y huevos, los cebos fueron probados por separado y en forma combinada durante dos meses (Foto 1.2 a). Los resultados obtenidos fueron negativos. Otro método de trampeo fue el de

trampas de caída, se cavaron 3 pozos de 120 cm de profundidad por 50 cm de diámetro, fueron cubiertos con papel y disimulados con tierra. Se los cebó con carne asada (Foto 1.2 b y c). En otro diseño de trampeo, se colocó una trampa-jaula simulando una madriguera, en la pared de una cárcava, el tipo de cebo utilizado fue el mismo que para los casos anteriores (Foto 1.2 d). Todas estas tareas de captura tuvieron una duración de 45 días (primera semana de noviembre hasta fines de diciembre de 2007). Los resultados fueron negativos.

Entre febrero y marzo del 2008, se recurrió a la captura por medio de trampas cepos acolchadas y con tope, los cebos utilizados fueron grasa cocida (chicharrón) (Foto 1.2 e). Durante la primera quincena del mes de abril, fueron capturados los 6 ejemplares de zorro gris. Se los inmovilizó con un lazo y posteriormente se produjo la inmovilización química. Los animales fueron pesados y se inyectó intramuscularmente la combinación de clorhidrato de Ketamina (Ketamina ®, Holliday Lab, anestésico disociativo) y Acepromacina Maleato (Acedan ®, Holliday Lab, tranquilizante), las dosis utilizadas para el anestésico fueron las recomendadas para el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) (Luengos Vidal, 2003), 11,6 mg/kg de Ketamina y 5 mg/kg de Acedan y modificadas por la Dra Veterinaria Liliana Merlo, Mat. Prov. 98.

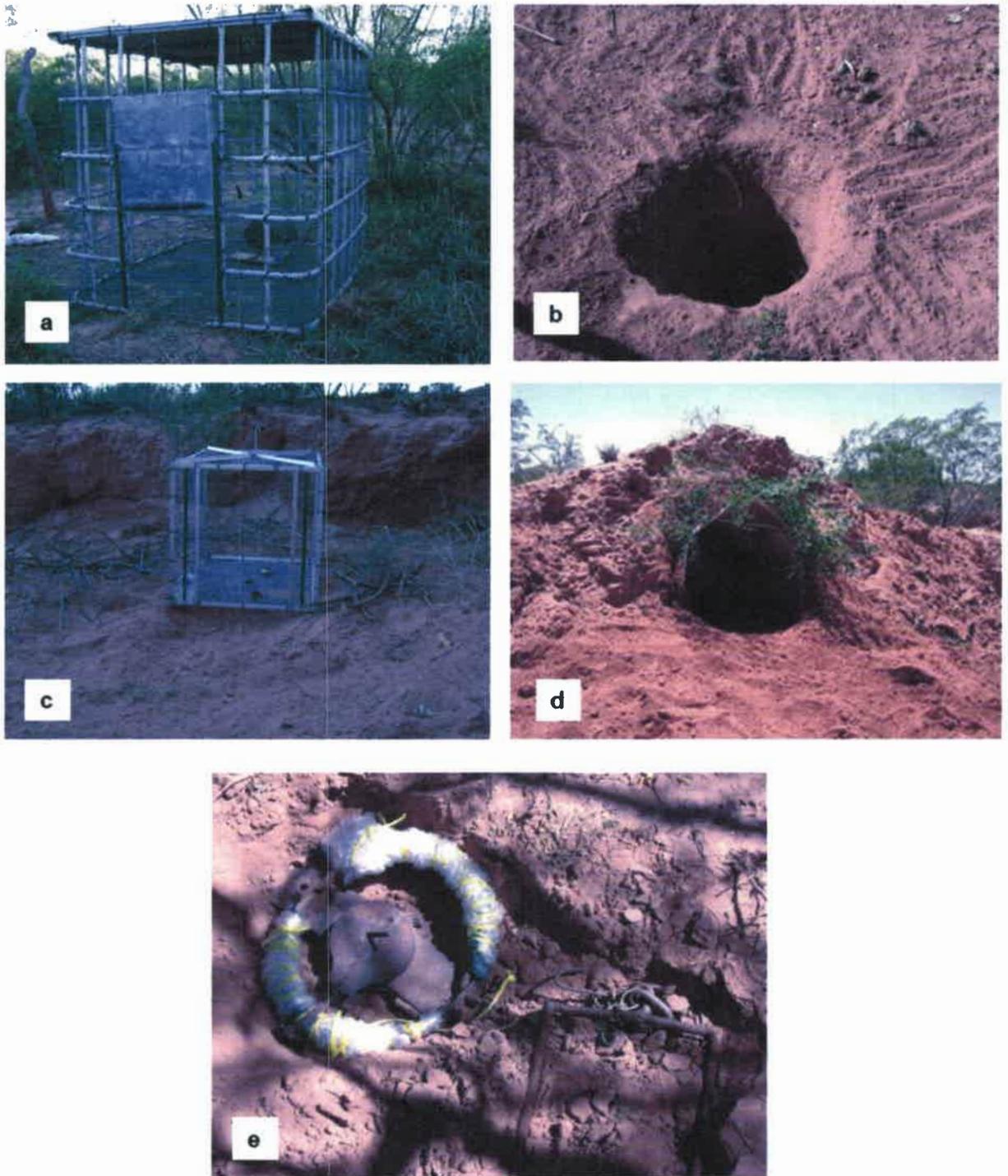


Foto 1.2. a- Trampa jaula cebadas con gallinas vivas. b- Trampa de caída sin tapar. c- Trampa de caída tapada y cebada. d- Trampa jaula tipo madriguera. e- Trampa cepo acolchada.

Introducción general

Se tomaron las medidas corporales clásicas: longitud total (LT) total, longitud de cola (LCo), long cabeza (LCa), distancia entre caninos (DC), longitud tarso-metatarso posterior (LMTP), longitud de la oreja (LO), circunferencia de cuello (CC) y altura a la cruz (AC) (Fig 1.2). Los animales fueron pesados, se les tomo la temperatura corporal y se estimó la etapa de desarrollo, juvenil o adulto, por medio de la observación de los dientes y su tamaño. Para la extracción de sangre, se identificó la vena safena externa. El procedimiento se llevó a cabo con aguja mariposa y jeringa. La sangre extraída se colocó en dos tubos, uno de ellos conteniendo EDTA (anticoagulante) destinada para el estudio morfológico y el otro tubo para obtener suero a partir de la coagulación. Las muestras se llevaron al laboratorio de análisis clínicos Higiea, Instituto médico privado, Análisis clínicos a cargo de la Bioquímica María Alejandra Arias (MP 4057), San Luis.

Previamente a la liberación, se tomaron nuevamente las medidas corporales y se les extrajo sangre. En la Tabla 1.1, se pueden observar las medidas correspondientes al momento de la captura, en el mes de abril, y las del mes de septiembre, el mismo día que se soltaron los zorros en el área de Hualtarán.

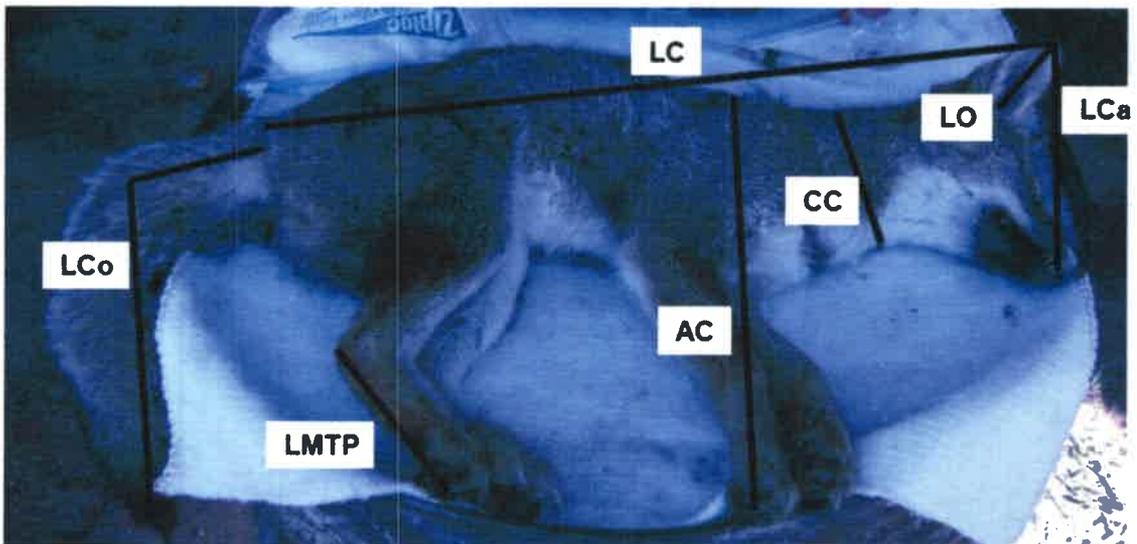
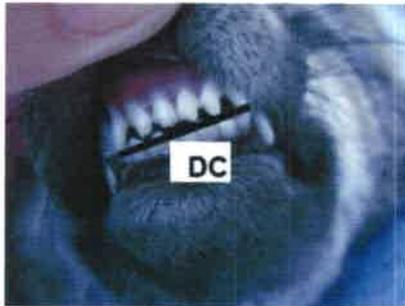


Figura 1.2. Imagen con las medidas corporales tomadas a los zorros. (LC) Longitud Cuerpo, (LCo) Longitud de Cola, (LCa) Longitud Cabeza, (DC) Distancia entre Caninos, (LMTP) Longitud Tarso-Metatarso Posterior, (LO) Longitud de la Oreja, (AC) Altura a la Cruz, (CC) Circunferencia Cuello.

Tabla 1.1. Medidas corporales (cm) de los zorros capturados. Se observan las medidas del día de la captura y de la liberación

Nº de animal	1		2		3		4		5		6	
	H		M		H		M		M		H	
Sexo	juvenil-adulto		adulto		juvenil-adulto		juvenil-adulto		adulto		juvenil-adulto	
Estadio de desarrollo	juvenil-adulto		adulto		juvenil-adulto		juvenil-adulto		adulto		juvenil-adulto	
Fecha de medición	06/04/200	06/09/200	06/04/200	06/09/200	08/04/200	06/09/200	09/04/2008	06/09/2008	09/04/200	06/09/200	10/04/200	06/09/200
Tº corporal	8	8	8	8	8	8	37,5	38,5	8	8	8	8
Peso (kg)	37,8	38,5	38,7	39,5	39,3	40	37,5	38,5	37	38,3	38,2	39
Long total (LT) (cm)	2,75	3,67	4,8	5,37	2,6	3,76	3,17	4,19	3,55	4,2	2,7	3,58
Long cola (LC)	79,5	85	87,5	92	80	81,5	80	90	82,5	88	73,5	80
Long cabeza (LCa)	37	35	35	38	32	34	34	37	35,5	38	31	32
Long cuello (DC)	16,8	17	19,8	20	16	16,5	20,5	21	18	20,5	18,5	19
Dist entre caninos (Dca)	6,5	7	9	10,5	7,5	7,5	8	9,5	7,9	9	7	7
Long tarso-metatarso post (LTMP)	2	2	2,3	2,3	1,9	1,9	1,9	1,7	2	2	1,9	1,9
Altura a la cruz (AC)	11,5	12,5	13	13	12	12	13	13	11,5	11,5	11	11,5
Long oreja (LO)	30	30	34	35	31	31	32	32	31	31	30	30
	6,5	7	7,5	8	6,5	7,3	6,5	7,5	7,3	7,5	6	7



Los primeros días fueron alimentados con carne y manzana, el agua se ofreció *ad libitum*. Durante el primer mes se puso a punto la composición de la dieta y su acostumbramiento a los distintos ingredientes como almidón, gelatina sin sabor, entre otros. El agua siempre se administró *ad libitum*.

Los zorros fueron mantenidos en jaulas individuales, las cuales tienen las siguientes dimensiones 1,2 m ancho x 1,2 m alto x 1,0 m largo. El techo de chapa lisa, está asentado sobre la estructura de hierro y fue cubierto por cartón. Los laterales de las jaulas se cubrieron con media sombra y con plásticos, con el objetivo de reducir los eventuales vientos que corren en esa zona y atenuar las bajas temperaturas (Foto 1.3 a), también se construyeron "cuchas" para que los zorros se resguardaran (Foto 1.3 b). El piso de la jaula es una malla (1x1 cm de lado) la cual permite la recolección de la orina y las heces. De esta manera la limpieza de las jaulas y la recolección de las muestras fueron más sencillas, reduciendo al mínimo las molestias ocasionadas a los animales. Las jaulas fueron colocadas a un metro de distancia entre ellas, rodeadas de la vegetación autóctona (Foto 1.3 c).

Introducción general



Foto 1.3. a- Jaula cubierta b- Cuchas c- Ubicación de las jaulas en el lugar de trabajo.

Introducción general



Zorro 1 (Flaca)



Zorro 2 (Gruñón)



Zorro 3 (Loca)



Zorro 4 (Adolescente)



Zorro 5 (Pancho)



Zorro 6 (Amazona)

CAPÍTULO II

**Análisis estacional en la oferta de recursos tróficos y
su consumo por parte de *Lycalopex griseus***

INTRODUCCIÓN

Los predadores generalistas pueden variar el consumo de diferentes presas en respuesta a fluctuaciones en la abundancia de los ítems a consumir (Dell'Arte et al., 2007). Los primeros estudios en cánidos, relacionados con la variación de los ítems en la dieta, fueron realizados en la década del 40 por Scott, (1943) quien sugiere que la disminución del consumo de presas animales por el coyote (*Canis latrans*) podría deberse a un aumento en la abundancia de materia vegetal y no por una disminución del ítem animal. Sin embargo, en 1951 Murie sugiere que el incremento estacional de la materia vegetal en las heces de los coyotes, se debe conjuntamente a un incremento de la oferta de plantas y una disminución en la materia animal (Ball y Golightly, 1992 y referencias incluidas *op sit*). Estudios en cánidos sudamericanos, confirman un aumento del consumo de frutos cuando disminuye la oferta de presa animal, especialmente la de pequeños mamíferos (Silva et al., 2004; Silva et al., 2005; Bueno y Motta-Junior, 2006)

Muchas especies de carnívoros, exhiben desde un punto de vista tipológico dietas omnívoras en las cuales se incluyen frutos, semillas y otras partes de la planta (Ball y Golightly, 1992; Rode y Robins, 2000; Santos et al., 2003; Arruda Bueno y Motta-Junior, 2004; Donadio et al., 2004; Nuñez y Bozzolo, 2006; Fortín et al., 2007; Rocha et al., 2008; Varela et al., 2008; Murdoch et al., 2009; Paralikidis et al., 2010). Los frutos no representan para un carnívoro, un alimento de alta calidad nutricional, como lo es una dieta con presas animales. Sin embargo, la nutrición animal no solo depende del tipo de alimento, sino también de las estrategias digestivas, de características conductuales, fisiológicas y morfológicas específicas (Mangione y Bozinovic, 2003; Silva et al., 2005). La selección del alimento se relaciona con las formas de adquisición, utilización, manejo y digestión de los ítems tróficos y de los nutrientes contenidos en el alimento (Degen, 1997; Mangione y Bozinovic, 2003).

En las especies del Género *Lycalopex*, se puede mencionar que para *L. gymnocercus* (zorro gris pampa) y *L. griseus* (zorro gris chico), los frutos son el recurso más frecuente en su dieta (Nuñez y Bozzolo, 2006; Varela et al., 2008), a diferencia de *L. culpaeus* (zorro colorado) el cual tiene como ítems predominantes mamíferos pequeños y medianos, insectos y escasos restos vegetales (Medel y Jaksic, 1988; Silva et al., 2005; Walter et al., 2007; Palacios et al., 2012). Para otros

cánidos de Argentina, *Cerdocyon thous* (zorro de monte) y *Chrysocyon brachyurus* (aguará guazú), los frutos están presentes con frecuencias de aparición relativas (FR%) que superan el 25% en la dieta, encontrándose en todos los casos, diferencias estacionales (Macfadem Juarez y Marinho-Filho, 2002; Arruda Bueno y Motta-Junior, 2004; Rocha et al., 2008). Hasta el momento, son escasos los estudios realizados en dieta de cánidos en Sudamérica en relación con la abundancia en el ambiente de algunos de los ítems consumidos y de la calidad nutricional de estos (Jaksic et al., 1980; Rau, et al 1995; Silva et al., 2005; Bueno y Motta-Junior, 2006) y solo Silva et al (2005), analizó a nivel nutricional, el fruto *Schinus molle*, el cual es consumido por *L. culpaeus*. El dato no es menor, puesto que conocer la abundancia de los recursos tróficos y además su valor nutricional, es de gran importancia debido a que los carnívoros poseen altos requerimientos de nutrientes, tiempos de retención relativamente cortos y altas demandas energéticas (Robbins, 1993, Degen, 1997). Para un cánido, una dieta balanceada en nutrientes se compone de aproximadamente 22% de proteína, 9% de lípidos máximo, 5% de vitaminas, 30% de carbohidratos, 4% de fibra y de agua 50-60 ml/kg de animal (National Research Council, 1982; Fletchall et al., 1995; Dell'Arte y Leonardi, 2005). Sumado a esto, en un ambiente semiárido, el agua podría considerarse como un nutriente limitante para la vida (Costa, 1995; Degen, 1997). Una escasa abundancia de agua provoca cambios en el comportamiento de los individuos que habitan estas áreas, pudiéndose observar una mayor actividad crepuscular o nocturna, el uso de madrigueras o refugios durante el día y la variación en los hábitos alimentarios (Degen, 1997).

En Argentina, una de las áreas que presenta características de ambientes semi árido, es el Parque Nacional Sierra de las Quijadas. En este sitio, en el período comprendido entre 1998 y 2000, se realizó la descripción de la dieta de *L. griseus*, utilizando Frecuencia de Aparición Relativa (FR%). Los resultados mostraron una variación estacional de los ítems consumidos, observándose en la estación seca un alto consumo de frutos de *Prosopis torquata*, en relación al resto de los ítems encontrados, mamíferos pequeños, insectos, gramíneas y cactus, entre otros (Nuñez y Bozzolo, 2006). A partir de lo mencionado, analizar la abundancia de biomasa y de nutrientes como agua, proteína y lípidos, de los ítems consumidos con mayor frecuencia por el *L. griseus*, en ambas estaciones, conjuntamente con la descripción de la dieta utilizando dos técnicas como FR% y Peso Seco Relativo (PR%), permitiría conocer si los recursos consumidos en una estación determinada, son aquellos que se

encuentran en mayor abundancia o si poseen un valor nutricional comparativamente alto.

Las hipótesis y predicciones que se plantean son las siguientes:

H₁: La dieta de *L. griseus* varía estacionalmente.

Predicción H₁:

A mayor abundancia de biomasa del recurso en el ambiente mayor frecuencia de aparición en la dieta.

H₂: *L. griseus* forrajea en función del valor nutricional de los ítems.

Predicción de H₂:

L. griseus selecciona los ítems de mayor valor nutricional independientemente de su abundancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en la localidad de Hualtarán, en el Parque Nacional Sierra de las Quijadas descrito en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 1. Se realizaron dos muestreos durante la estación húmeda (noviembre a fines de marzo) y tres en la estación seca (principios de abril a fines de octubre). Cada campaña tuvo una duración de 4 días y tres noches. El área total muestreada fue de 148 ha (Nuñez y Mangione, 2008).

Recolección y análisis de las fecas

La búsqueda y colecta de las fecas, se realizó durante 5 horas diarias, en cada una de las campañas realizadas, en las cuales intervinieron ocho personas, se excluyeron las muestras de color blanco o resacas, asegurando, de esta forma, analizar heces de la estación. Una vez en el laboratorio, se realizó el análisis del contenido de las mismas. La técnica utilizada siguió los lineamientos generales descritos por González del Solar et al., (1997). Las heces se desintegraron con agua caliente y alcohol 96°. El reconocimiento de los ítems presentes en las heces se realizó por medio de observaciones con lupa tipo estereoscópica. Las especies de mamíferos se determinaron por medio del análisis de pelos (Chehébar y Martín 1989). Se realizó además, la determinación de contenido en lípidos y proteínas de las fecas en cada estación.

La cuantificación de los restos hallados se llevó a cabo aplicando la técnica de Frecuencia de Aparición Relativa (FR%) de las diferentes categorías tróficas, siendo la Frecuencia de Aparición el número de heces que contienen un ítem determinado dividido el número total de heces analizadas por 100 y el Peso Seco Relativo (PS%) el cual se calcula como el peso seco de cada ítem en relación al peso total de la feca por 100 (Novaro et al. 1995; González del Solar et al. 1997; Parera 1996).

Recolección del material

La tarea de recolectar las muestras para posteriormente determinar la abundancia de la biomasa y el contenido nutricional de roedores, insectos, gramíneas, *P. torquata* y cactus, se llevó a cabo en cada campaña.

a.- Animales

Roedores: Se dispusieron cuatro grillas de 10 x 5 trampas tipo Sherman de captura viva, la distancia intertrampa fue de 20 m. La disposición de las grillas fue al azar. Se mantuvieron activas durante tres noches y fueron cebadas con avena arrollada, siendo revisadas todas las mañanas. Los individuos capturados fueron pesados, identificados y posteriormente liberados en los mismos sitios. Se utilizaron los ejemplares muertos en trampa, para realizar las medidas del contenido en agua, proteína y lípidos.

Insectos: El método de muestreo utilizado para insectos caminadores, fue el de trampas Pitfall, ya que es uno de los métodos más apropiado para la captura de Coleópteros (Cooper y Whitmore, 1990). Se colocaron 12 grillas durante los días que duró cada muestreo. La disposición de cada grilla fue en "Y", presentando cada una siete trampas Pitfall. Para aumentar la superficie de captura se le agregó tela mosquitera (Fig. 2.1). Para el caso de insectos del grupo Ortóptera, se utilizaron redes realizando movimientos de lado a lado sobre transectas de 200 m de largo por 1,5 m de ancho aproximadamente, por cada campaña se realizaron ocho muestreos.

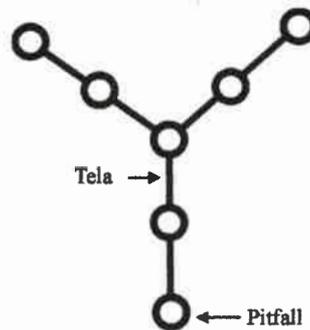


Fig 2.1: Diseño de trampas pitfall

b.- Vegetación:

Prosopis torquata: el cálculo realizado de muestra mínima para estimar la cantidad de arbustos a muestrear fue la de mínimos cuadrados, la cual dio como resultado 30 individuos. Posteriormente, se seleccionaron los 30 árboles al azar, para la recolección de los frutos se llevó a cabo trazando tres transectas de 3 m de largo por 1 m de ancho, separadas por 120°, ubicándolas en forma radial desde el tronco hacia afuera de la copa (Fig 2.2), se levantaron los frutos que estaban en el suelo, ocupando una superficie de 9m² por árbol, se los colocó en bolsas herméticas y se las

pesó de inmediato. Una vez en laboratorio fueron colocados en estufa a 60° C hasta peso constante.

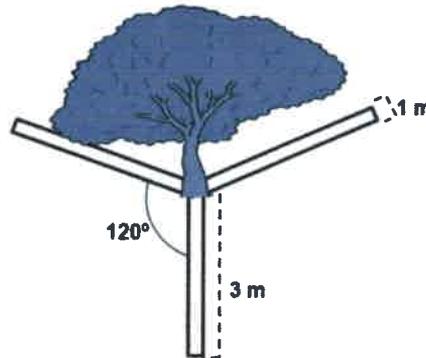


Fig 2.2: diseño de recolección de frutos de *P. torquata*

Cactus: para cada salida, se trazaron 4 transectas al azar de 200 m de largo por 1 m de ancho, se contaron artejos de *Tephrocactus sp* y cladodios de *Opuntia sp* ubicadas a lo largo de la transecta, se recolectaron muestras de cada especie. El material fue colocado en bolsas herméticas y se las pesó de inmediato. Una vez en laboratorio fueron colocados en estufa a 60° C hasta peso constante.

Gramíneas: Para la recolección del material, se realizaron para cada salida 4 transectas trazadas al azar de 200m de largo por 1m de ancho, cada 20 m se cortaron todas las gramíneas ubicadas dentro de un 1m². El material fue colocado en bolsas herméticas y se las pesó de inmediato. Una vez en laboratorio fueron colocados en estufa a 60° C hasta peso constante.

Estimación de biomasa y nutrientes

Para la estimación de la abundancia de agua (l/ha) en cada ítem, se calculó mediante la diferencia entre el peso fresco y el peso seco relacionado al área de muestreo. Para el cálculo de la biomasa se utilizó el peso fresco de cada ítem en un área determinada (kg/ha). Para el caso del grupo de los insectos, no se colectó ningún individuo con ninguna de las dos técnicas mencionadas anteriormente, por lo que se colectaron al azar coleópteros para realizarles las determinaciones nutricionales.

La cuantificación de lípidos se realizó mediante la técnica de extracción Soxhlet con éter de petróleo 35° - 65°. Se colocaron 3 g de muestra seca y molida, en dedal de extracción; el dedal se introdujo en el extractor Soxhlet; se montó el equipo con balón

previamente pesado sobre manto eléctrico, agregando éter de petróleo; la extracción se realizó por 2 h y luego se eliminaron los solvente en estufa a 60°C, posteriormente, se pesó el balón y mediante la diferencia con su peso inicial se calculó la cantidad de lípidos contenidos en la muestra (Muñoz-Concha et al., 2004).

El método para evaluar el contenido de nitrógeno total se efectuó mediante el método de Kjeldahl, el cual se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado en presencia de los catalizadores K_2SO_4 y $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, formándose NH_4SO_2 que en exceso de NaOH libera NH_3 , el que se destila recibiendo en B_2SO_4 formándose $(NH_4)_3BO_3$ el que se valora con H_2SO_4 0,1N (Muñoz-Concha et al., 2004).

Análisis estadísticos

Se aplicó la prueba no paramétrica Chi^2 , para determinar la existencia de diferencias estacionales de los distintos ítems presentes en la dieta de *L. griseus*. Para determinar si existen diferencias en la biomasa y el contenido de proteína, lípidos y agua de los grupos alimenticios, se utilizó Análisis de la Varianza y para las comparaciones a posteriori se utilizó la prueba de Tukey. En todos los casos se realizó la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilks modificado, en aquellos casos donde no se mantuvo el supuesto de la normalidad, el estadístico no paramétrico utilizado fue Kruskal Wallis (H). Mediante el análisis de correlación de Pearson, se evaluó la correspondencia entre la FR% de *P. torquata* y la FR% de mamíferos en las heces, en los distintos muestreos, en relación al consumo estacional. El programa estadístico utilizado fue InfoStat (Di Rienzo et al., 2001).

RESULTADOS

Composición de la dieta de *L. griseus*

Los resultados obtenidos del análisis de las heces, reflejan una variación estacional en la dieta de *L. griseus*, en el análisis de FR% ($\text{Chi}^2=26,5$, $gl=4$, $\alpha=0,05$) (Tabla 2.1), coincidiendo de esta manera con los resultados obtenidos en análisis anteriores en el mismo área (Nuñez y Bozzolo, 2006).

Componentes	Estación Seca		Estación Húmeda	
	PR%	FR%	PR%	FR%
Gramíneas	0,1	2,5	0,0	2,2
Cactus	3,2	5,8	2,1	5,6
Leguminosas NI	0,0	0,0	12,2	4,3
<i>Prosopis sp</i>	4,6	2,3	16,1	6,1
<i>P. torquata</i>	59,9	27,8	31,8	5,2
Restos vegetales NI	8,9	7,7	0,2	6,5
Plantas	76,6	46,1	62,4	29,7
Insectos	3,1	19,8	5,4	30,6
Escorpion	4,7	3,3	0,0	2,6
Artrópodos	7,7	23,1	5,4	33,2
Reptiles	0,4	2,1	0,0	0,0
Aves	0,7	3,6	1,2	6,1
Mamíferos	2,4	3,9	15,1	9,0
Restos	12,2	21,1	16,1	22,0
TOTAL	100,0	100,0	100,0	100,0
N° de fecas	53		23	

NI: no identificados

Tabla 2.1: Peso relativo (PR%) y Frecuencia relativa (FR%) de los ítems encontrados en la dieta de *L. griseus* en ambas estaciones. En negrita están resaltados los ítems que fueron medidos a campo.

Para ambos análisis, cada ítem mantiene la proporción en las distintas estaciones, aún con las sobrestimaciones en la importancia de presas pequeñas en el análisis de frecuencia y las subestimaciones de las presas grandes para el análisis de peso relativo. Para los análisis de este trabajo se utilizó FR%, ya que en el 94% de los trabajos que estudian dietas de carnívoros, utilizan este método y es conveniente para el momento de la comparación y discusión (Klare et al., 2011). Se reconocieron en las heces otros grupos con FR% más bajas (Tabla 2.1). En este trabajo, se realizaron los análisis nutricionales y de biomasa en el ambiente, a los ítems consumidos por *L.*

griseus, con mayor frecuencia en ambas estaciones. Estos recursos tróficos fueron *P. torquata*, Insectos, Roedores, Cactus y Gramíneas. Comparando cada uno de estos ítems en las distintas estaciones, se observa que solo para *P. torquata* hay diferencia significativa ($\text{Chi}^2=42,1$, $\text{gl}=1$, $\alpha=0,05$).

En general, los trabajos relacionados con dieta, utilizan para su análisis la técnica de FR% (Santos et al., 2003; Donadio et al., 2004; Bueno y Motta-Junior, 2004; Nuñez y Bozzolo, 2006; Silva et al., 2005; Fortín et al., 2007; Rocha et al., 2008; Varela et al., 2008; Murdoch et al., 2009; Paralikidis et al., 2010; Palacios et al., 2012, entre otros), en este estudio se utilizan los datos de FR%, obtenidos en cada campaña en ambas estaciones (Fig. 2.3)

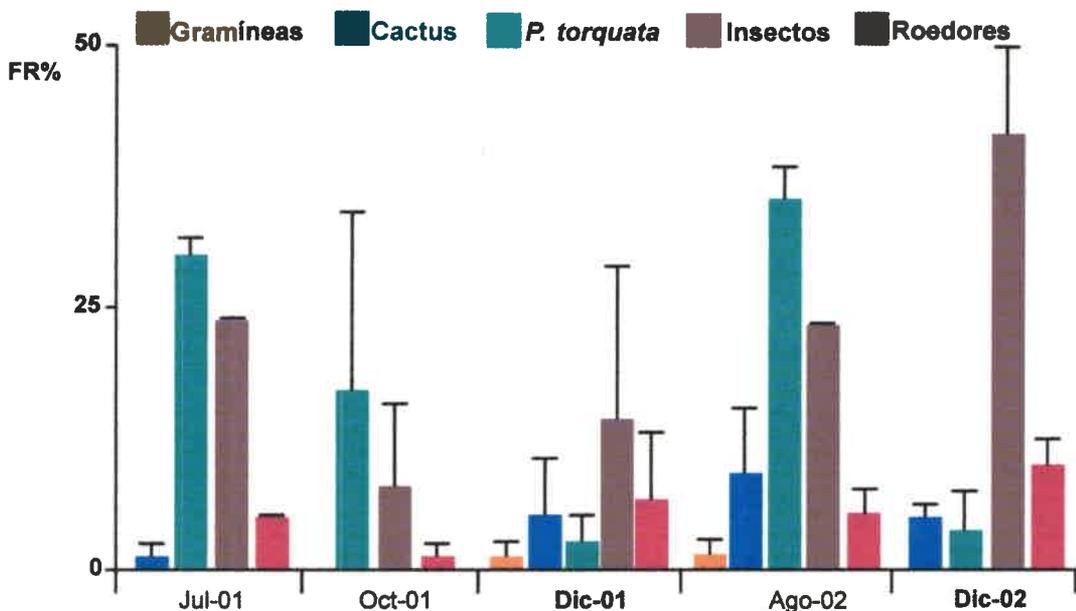


Figura 2.3. FR% de los distintos ítems en los 5 muestreos realizados. Estación seca Jul-01, Oct-01 y Ago-02. Estación húmeda Dic-01 y Dic-02. Las barras indican error estándar.

Biomasa del recurso trófico

Los resultados de la abundancia de biomasa en el ambiente medidas, en ambas estaciones a lo largo de 5 campañas (3 secas y 2 húmedas), muestran que existe diferencia estacional en el grupo cactus ($F_{4,15}=4,98$, $p=0,01$); los resultados correspondientes a la estación húmeda, Dic-01 y Dic-02, son significativamente mayores que las correspondientes a la estación seca (test de Tukey). Para roedores y

Composición nutricional de los recursos tróficos

Para el grupo de los roedores y para las gramíneas, no se observaron diferencias estacionales en los recursos medidos, agua, lípidos y proteínas. Para el caso de los cactus, su contenido en agua fue mayor en la estación húmeda (75%) ($F_{4,15}=3,8$, $p=0,02$). Con respecto a *P. torquata*, se observó el mismo patrón que en la biomasa, teniendo en cuenta la salida de julio 2001, hubo diferencias ($H=32$, $gl=4$, $p<0,001$), sumando al análisis las muestras tomadas en los años 2007 y 2008, la diferencia es debido a la salida de julio 2001.

Para las determinaciones del contenido de lípidos y proteínas en los ítems de la dieta, se puede mencionar que no existen diferencias entre las dos estaciones, excepto para el parámetro lípidos en el ítem *P. torquata* ($F_{4,13}=24,1$, $p<0,001$) siendo 3,7 veces mayor en la estación seca. Para Cactus la diferencia se presenta en proteínas ($F_{3,23}=7,2$, $p<0,001$), donde el valor máximo se observa en la estación húmeda (Tabla 2.2). El contenido en proteína de los insectos fue de 65,1%, es el valor más alto en relación al resto de los ítems. Esto es importante, ya que la FR% de los insectos es alta para ambas estaciones, seca 19,8% y húmeda 30,6%, siendo para la estación estival, el valor más alto. En general, con respecto a lípidos el resultado obtenido fue de 8,1% y para el contenido en agua fue de 55,6%.

Se analizó el contenido de lípidos y de proteínas en las heces recolectadas en todas las campañas, observándose solo diferencias estacionales en proteínas, siendo mayor en las salidas correspondientes a la estación húmeda (Fig 2.5).

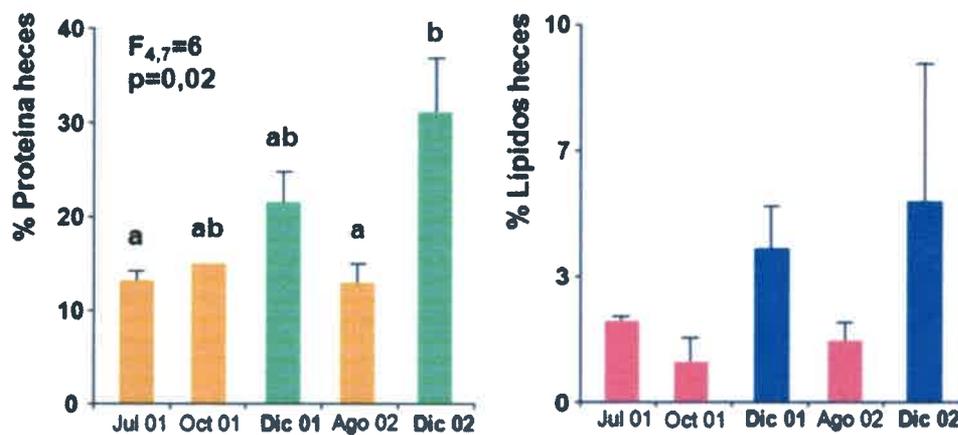


Figura 2.5. Contenido de proteína y de lípido en las heces de *L. griseus* Estación seca Jul-01, Oct-01 y Ago-02. Estación húmeda Dic-01 y Dic-02. Las barras indican error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre medias (Prueba *a posteriori* de Tukey $p < 0,05$).

Tabla 2.2. Biomasa y nutrientes de los distintos ítemes en los 5 muestreos realizados. Jul-01, Oct-01 y Ago-02 pertenecen a la estación seca, Dic-01 y Dic-02 a la estación húmeda. Se indican las medias \pm error estándar.

Salida	Item	Biomasa kg/ha	Lípidos %	g lípidos/ha	Proteína %	g proteína /ha	Agua l/ha	Agua %
jul-01	Roedores	0,03 \pm 0,001	7,5 \pm 0,2	2,2 \pm 0,2	56,6 \pm 1,2	16,8 \pm 1,2	0,08 \pm 0,001	73,6 \pm 0,6
	<i>P. torquata</i>	9,7 \pm 0,4	2,4 \pm 0,06	149,2 \pm 0,1	12,5 \pm 0,6	1212,9 \pm 0,6	1,1 \pm 0,03	13,2 \pm 0,4
	Cactus	98,4,2 \pm 4,5					67,8 \pm 3,2	68,9 \pm 0,1
	Gramineas	71,4 \pm 4,3	1,1 \pm 0,1	773 \pm 0,1	4,5 \pm 0,8	2429 \pm 0,8	19,6 \pm 1,3	16,4 \pm 0,4
oct-01	Roedores	0,04 \pm 0,001	8,7 \pm 0,4	2,9 \pm 0,4	53,3 \pm 0,3	17,7 \pm 0,6	0,13 \pm 0,001	79,3 \pm 0,10
	<i>P. torquata</i>	3,2 \pm 0,3	1,5 \pm 0,06	49,5 \pm 0,1	13,3 \pm 3,3	418,5 \pm 3,3	0,5 \pm 0,03	17,5 \pm 0,8
	Cactus	71,1 \pm 8,4	1,5 \pm 0,1	1069,2 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1	2908 \pm 0,1	61,1 \pm 7,4	79,9 \pm 0,6
	Gramineas	33,7 \pm 4,4	1 \pm 0,01	340,5 \pm 0,1	9,5 \pm 0,5	3192,8 \pm 0,5	7,9 \pm 1,8	8,9 \pm 0,4
dic-01	Roedores	0,03 \pm 0,002	10,4 \pm 0,9	2,7 \pm 0,8	53,8 \pm 0,3	13,3 \pm 0,3	0,06 \pm 0,001	72,2 \pm 1,5
	<i>P. torquata</i>	0,8 \pm 0,04	0,5 \pm 0,04	4 \pm 0,004	9,4 \pm 0,5	79,2 \pm 0,5	0,1 \pm 0,004	5,9 \pm 0,3
	Cactus	186,2 \pm 12,4	1,7 \pm 0,1	3087 \pm 0,1	4,1 \pm 0,2	7615,2 \pm 0,2	121,2 \pm 6,9	70,1 \pm 0,8
	Gramineas	23 \pm 1,3	1,5 \pm 0,1	338,2 \pm 0,1	10,1 \pm 0,8	2320,2 \pm 0,8	4,8 \pm 0,9	11,4 \pm 0,5
ago-02	Roedores	0,02 \pm 0,001	8,6 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2	54 \pm 0,4	2 \pm 0,4	0,05 \pm 0,001	77,8 \pm 0,9
	<i>P. torquata</i>	2,5 \pm 0,2	1,6 \pm 0,1	59,7 \pm 0,1	8,3 \pm 0,1	204,4 \pm 0,1	0,3 \pm 0,02	6,6 \pm 0,3
	Cactus	95,2 \pm 11,7	1,6 \pm 0,1	1558,9 \pm 0,1	4,8 \pm 0,1	4581,5 \pm 0,1	55 \pm 6,6	67,4 \pm 0,8
	Gramineas	13,7 \pm 2,1	0,8 \pm 0,04	108,4 \pm 0,04	6,3 \pm 0,5	856,8 \pm 0,5	2,9 \pm 0,4	8,7 \pm 0,3
dic-02	Roedores	0,03 \pm 0,002	10,5 \pm 0,2	2,5 \pm 0,2	52,6 \pm 0,3	13,1 \pm 0,3	0,06 \pm 0,001	71,2 \pm 1,5
	<i>P. torquata</i>	2,1 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	13,2 \pm 0,1	10,1 \pm 0,6	182 \pm 0,1	0,2 \pm 0,02	7,3 \pm 0,4
	Cactus	156,2 \pm 8,9	1,3 \pm 0,1	2009,7 \pm 0,1	7,3 \pm 0,4	11472,5 \pm 0,4	110,7 \pm 7,9	79 \pm 1,3
	Gramineas	46,1 \pm 1,4	0,9 \pm 0,1	402,5 \pm 0,1	9,1 \pm 0,9	2884,8 \pm 0,9	34,2 \pm 1,3	29,6 \pm 0,7

Se encontraron en las fecas, las semillas y gran parte de la vaina de *P. torquata* sin digerir. Se pudo observar también, que la alta FR% de *P. torquata* en las fecas, en los muestreos realizados en la estación seca, coinciden con una disminución en la FR% de mamíferos en las mismas campañas y contrariamente a los muestreos de la estación húmeda. La correlación de Pearson entre dichas variables es negativa ($r = -0,94$, $p = 0,02$) (Fig. 2.6).

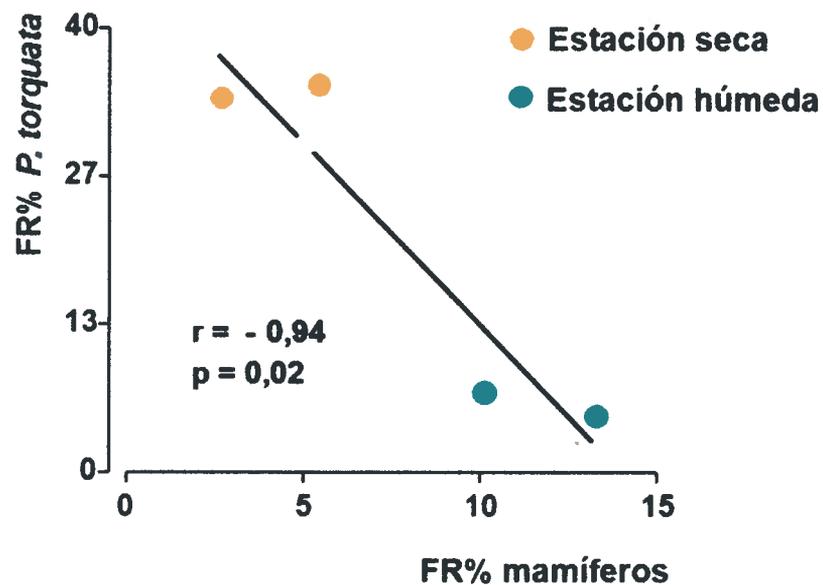


Figura 2.6. Correlación entre la FR% de mamíferos y la FR% de *P. torquata* en las heces de *L. griseus*.

DISCUSIÓN

Dieta y biomasa del recurso trófico

A lo largo de todo el año, *L. griseus* presentó una dieta mixta y con diferencias estacionales en la frecuencia de aparición de los ítems. Se advirtió una ingesta alta de insectos, la cual alcanzó su frecuencia máxima en la estación húmeda (FR% 30,6), posiblemente debido al marcado aumento de las poblaciones de estos invertebrados durante la época estival (Medel y Jaksic, 1988; Home y Jhala, 2009). Estos resultados coinciden con estudios realizados en otros sitios con la misma especie (Medel y Jaksic, 1988; González del Solar et al., 1997; Zúñiga et al, 2008) y con otros cánidos (Dell'Arte y Leonardi, 2005; Dell'Arte y Leonardi, 2009; Home y Jhala, 2009; Castillo et al., 2011) y con los obtenidos en análisis anteriores en la misma área y con la misma especie, *L. griseus* (Nuñez y Bozzolo, 2006).

El otro grupo animal consumido fue el de los roedores, en el cual se pudo advertir, sin que haya diferencia significativa estacional, una tendencia en la FR% durante la estación húmeda. Esto podría deberse a la coincidencia con el inicio de la estación reproductiva de los roedores (Degen 1997). La abundancia del ítem roedor, se mantuvo estable durante ambas estaciones. Se calculó un promedio de 2,8 roedores de 37gr, aproximadamente, por hectárea. Según los resultados obtenidos por Martínez, et al., (1993), la biomasa de micromamíferos obtenidos, sería relativamente baja. Si bien en el área de estudio no se han realizado determinaciones de abundancia de *L. griseus*, trabajos publicados en *L. gymnocercus*, *L. culpeus* y *L. griseus*, en diferentes lugares de Argentina, mencionan la presencia de un zorro por km² (0,01 zorro por ha aproximadamente) (Perovic, 1998; Novaro et al., 2000; Luengos Vidal, 2003). Si se tiene en cuenta este dato, como referencia para nuestro área de trabajo, *L. griseus* cubrirían los requerimientos diarios de energía y nutrientes. En las fecas, también fueron encontrados pelos de *Dolichotis patagonum* y *Didelphis albiventris*, lo cual indicaría que los zorros en esta área, estarían consumiendo mesomamíferos. Son numerosos los estudios que muestran un consumo de pequeños y medianos mamíferos, en algunos casos la ingesta de ganado ovino y bovino (carroña) (Castillo et al., 2011; Palacios et al., 2012).

En algunas dietas, el consumo de frutos se destaca por encima de ítems animales, cuando estos últimos se encuentra en una baja abundancia en el ambiente

(Dell'Arte y Leonardi, 2005; Dell'Arte y Leonardi, 2009; Silva et al., 2004). En nuestro caso de estudio, *L. griseus* presentó en la dieta, una alta FR% de frutos de *P. torquata* y una FR% menor de mamíferos en la estación seca, en la estación húmeda el consumo fue inversamente proporcional (Fig. 2.6), es decir una correlación negativa entre ambas FR%. Estadísticamente, la abundancia de biomasa en ambos ítems, no varía estacionalmente, pero puede observarse que en la estación seca la abundancia de frutos es 2 veces mayor que en la estación húmeda, sin tener en cuenta el muestreo de julio 01, lo contrario ocurre con los roedores. En este caso estos resultados indicarían y confirmarían, un comportamiento oportunista, en el cual consume lo que está disponible, coincidentemente con otros trabajos (Medel y Jaksic, 1988; González del Solar et al., 1997; Zúñiga et al, 2008; Castillo et al., 2011; Palacios et al., 2012).

Otro grupo vegetal presente en la dieta de *L. griseus*, fueron los cactus, *Opuntia* spp y *Tephrocactus* sp. En diversos trabajos, se menciona a los cactus como ítems de la dieta de cánidos que habitan ambientes áridos y semi áridos (Guerrero et al., 2002; Alvarez-Castañeda y González-Quintero, 2005; Nuñez y Bozzolo, 2006). En este estudio, la FR% en el consumo de cactus no presentó diferencia estacional, se identificaron semillas y epitelio de cladodios. Si se observó variación en la abundancia de la biomasa siendo mayor en la estación húmeda, esto coincide con estudios realizados en cactus en áreas semi áridas (Andrade-Montemayor et al., 2011)

Numerosos trabajos mencionan la presencia de gramíneas en la dieta de los cánidos, explicando su presencia como accidental, en algunos casos como método natural desparasitario o como auxiliar en la digestión aunque su digestibilidad es baja (Motta-Junior et al., 1996; Guerrero et al., 2002; Bueno y Motta-Junior, 2004; Rocha et al., 2004; Varela et al., 2008; Homea y Jhala, 2009; Castillo et al 2011). En este estudio, teniendo en cuenta que su FR% en la dieta es escasa y que en ninguno de los muestreos se encontraron regurgitaciones de gramíneas, se podría pensar que el consumo es accidental. Tanto las aves como los reptiles aparecen en frecuencias muy bajas, coincidiendo con los resultados obtenidos por Geffen et al., (1992).

Componentes nutricionales del recurso trófico

Los nutrientes pueden desempeñar un papel indispensable en la explicación y la predicción de las interacciones entre los organismos (Ríos, 2011). Los cánidos

requieren gran cantidad de nutrientes, presentan tiempos de retención relativamente cortos y altas demandas energéticas (Robbins, 1993, Degen, 1997). Para un zorro de las características de *L. griseus*, con un peso aproximado de 4 kg, el consumo de alimento sería de 120gr diarios, de los cuales 18,3 gr son de proteína (NRC, 1982, Fletchall et al., 1995, Degen, 1997, AAFCO, 2003, Dell'Arte y Leonardi, 2005, Fortes et al., 2010). Conociendo la composición nutricional de los recursos mayoritarios en la dieta de *L. griseus*, se podría confirmar que los requerimientos proteicos estarían cubiertos en ambas estaciones, siendo los roedores el recurso más nutritivo y estable en el ambiente, ya que no varía estacionalmente. También, los insectos son fuente de proteína (65%) y están presentes en la dieta durante todo el año en un 20% en la seca y un 30% en la húmeda. Durante la estación seca, la FR% de frutos de *P. torquata* en la dieta fue mayor que la de los roedores, coincidentemente se pudo observar que la proporción de proteína y de lípidos en las heces fue menor en dicha estación. Durante la estación húmeda, el consumo de roedores y de insectos fue mayor y en las heces se reflejó un aumento en ambos nutrientes.

Dell'Arte y Leonardi (2009), sugieren que el consumo de Ortopteros, como presa alternativa para *Vulpes vulpes*, es un recurso esencial para cubrir los requerimientos de agua. Otro ítem importante que complementaría el aporte de agua, son los cactus, en este trabajo se midió el contenido de agua y fue de aproximadamente 75% de este nutriente, estos valores coinciden con los publicados por otros autores para el *Opuntia sp* (Guevara-Figueroa et al., 2010, Andrade-Montemayora et al., 2011). Un cánido de 4 kg, requiere por día aproximadamente 260ml de agua (Degen, 1997), con el consumo de roedores, insectos y cactus, se complementarían las necesidades diarias de agua. El consumo de los tres recursos por *L. griseus* se observa durante todo el año. En el Capítulo IV de este trabajo, se pone a prueba la hipótesis que *L. griseus* utiliza a los cactus como fuente preformada de agua.

Son numerosos los estudios que muestran el alto consumo de frutos por cánidos (Nuñez y Mangione, 2002, Bueno y Motta-Junior, 2004, Nuñez y Bozzolo, 2006, Rocha et al., 2008, Varela et al., 2008, Murdoch et al., 2009, Birochio, 2008, Luengos Vidal, 2009), en algunos casos, estos frutos presentan bajos contenidos nutricionales, con respecto a los requerimientos de estos cánidos, en relación a proteína, como es el caso de *P. torquata* (10%) en nuestro estudio y *Schinus molle*

(5,4%) para *Pseudalopex culpeus* en Chile (Silva et al., 2005(a), Silva et al., 2005). Ya que las vainas en las heces se encuentran prácticamente enteras y no digeridas a excepción posible del mesocarpo. Los frutos de *Prosopis sp* contienen aproximadamente 55% de carbohidratos (Felker et al, 2003), esto los hace altamente palatables y es quizás el motivo por el cual lo consuman, hipótesis no puesta a prueba en este trabajo. Otra característica de los frutos de estas Leguminosas, es que poseen actividad estrogénica debido a la presencia de compuestos estrogénicamente activos. En su mayoría estos compuestos son de origen no esteroideo y son denominados fitoestrógenos (De Naeyer et al., 2005). La estructura química de los fitoestrógenos presenta similitud con la del estrógeno de mamíferos, con un efecto directo de estimulación o inhibición de la actividad de hormonas sexuales o precursores de las mismas (Labov, 1977, Chamley et al., 1985, Oseni et al., 2008). Esto podría relacionarse con el período de nacimientos de zorros en esta región, que coincide con la finalización de la estación seca, periodo durante el cual, el consumo de frutos de *P. torquata* es considerablemente alto, como se observó en este estudio y en trabajos anteriores (Nuñez y Bozzolo, 2006). El Capítulo IV de esta tesis pone a prueba los efectos potencialmente disruptivos en la reproducción de los frutos de *P. torquata* probados en ratas Wistar como modelo biológico.

Extrapolando la abundancia de cánidos anteriormente mencionada, un zorro por km² (0,01 zorro por ha aproximadamente), a nuestro área de trabajo, se podría concluir que la abundancia de la biomasa de los ítems presentes en la dieta de *L. griseus*, medidos en el ambiente, al igual que los nutrientes esenciales como proteína y agua, serían los necesarios para cubrir los requerimientos de un cánido con las características de *L. griseus*.

Price et al., (2012) mencionan que, la historia evolutiva de los mamíferos está íntimamente relacionada con la dieta. Muchas hipótesis se han centrado en las estrategias tróficas específicas, por ejemplo, los análisis teóricos, paleontológicos y comparativos sugieren que los carnívoros son los más propensos a la extinción, ya que dependen de alimentos menos abundantes y con altos gastos de energía para su captura. Estos autores, analizaron varios modelos de ajuste, en los cuales pudieron observar que existen diferentes tasas de transición, una de la más alta es la de carnívoros a omnívoros. La diversidad de los omnívoros, evoluciona principalmente a través de transiciones de las diferentes estrategias, herbívoros o carnívoros a

omnívoros. En el caso de los carnívoros, estas transiciones estarían relacionadas a una disminución en la abundancia de los recursos. Esto nos permite entender que un carnívoro como *L. griseus*, se comporta como un omnívoro, consumiendo diversos recursos de origen animal y vegetal, aun aquellos que son poco digeridos, como los frutos. A nivel nutricional, también se comportarían como omnívoros, ya que incorporan nutrientes como proteínas, agua, fibra y carbohidratos, a partir de diferentes recursos, como son los roedores, insectos y frutos, entre otros. Sería de gran interés, profundizar en características de tipo conductual que puedan completar el conocimiento de la ecología alimentaria de estos cánidos, en este y otros ambientes áridos y semiáridos para posteriormente compararlos entre sí.

En resumen, *L. griseus* incorpora una serie de ítems desde el punto de vista trófico que sugieren una estrategia alimentaria de complemento nutricional. Por un lado dispone de múltiples fuentes de proteínas, como mamíferos de pequeño y mediano tamaño (ratones y maras) por otro lado incorpora insectos, todos son una fuente rica en agua, a la que se le sumaría la proveniente de cactus. Al mismo tiempo sería un complemento nutricional (aunque no testeado en este estudio) los frutos (*P. torquata*) en términos de incorporar azúcares hidrolizables eso sí, con el costo de incorporar una alta cantidad de fibra en su dieta. En el próximo capítulo analizaremos el efecto de la fibra en la digestibilidad de materia y nitrógeno en *L. griseus* de manera de establecer las relaciones entre la ingestión de los dos compuestos principales consumidos por esta especie en el Parque Nacional Sierra de las Quijadas, proteínas y fibras.

CAPÍTULO III

**Efecto de diferentes contenidos de fibra en la
digestibilidad de alimento, nitrógeno y FDN de
*Lycalopex griseus***

INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos constituyen una amplia gama de proveedores de energía, esto involucra tanto a los azúcares fácilmente digeribles como la glucosa y la fructosa, como a polisacáridos complejos con funciones estructurales (celulosa, quitina). Los carbohidratos como tal no son esenciales en la dieta de los animales, ya que las cadenas de carbono necesarias para fabricación de diferentes estructuras podrían provenir de proteínas y lípidos dietarios. Sin embargo, la energía que estos producen, es definitivamente necesaria para el animal (Robbins 1983, Hill et al., 2004; Karasov and Martínez del Río, 2007).

Al grupo de los carbohidratos estructurales, los cuales están formando la pared celular vegetal (celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina y cutina), se lo denomina fibra dietaria total. Van Soest (1994) clasifica la fibra en dos fracciones que difieren en su disponibilidad para la fermentación de los microorganismos, una es la Fibra detergente ácida (FDA), que contiene principalmente celulosa y lignina, y la otra es Fibra detergente neutra (FDN), que contiene celulosa, hemicelulosa y lignina (Robbins, 1983; Karasov and Martínez del Río, 2007 y referencias incluidas *op sit*). Los animales con adaptaciones del tracto digestivo, bien sea pregástrico (rumiantes, marsupiales macrópodos y perezosos, entre otros) o post-gástrico (muchos primates y perisodáctilos), que poseen una interacción simbiótica microbiana, pueden emplear carbohidratos estructurales, transformándolos en ácidos grasos volátiles, que tienen gran valor nutritivo (Dierenfeld and Graffam, 1996). Por ejemplo, las bacterias fibrolíticas son capaces de digerir la fibra produciendo acetato como producto principal de la fermentación, el cual es fundamental para la síntesis de la leche (Guzmán, 2010).

En el grupo de carnívoros existen especies que se alimentan mayormente de plantas, por lo que llama la atención, el mecanismo que utilizan estos animales para obtener el mejor provecho de estas dietas, debido a que su sistema digestivo no presenta propiedades óptimas para la utilización de la fibra. Un ejemplo de esto es *Ailuropoda melanoleuca* (Panda gigante), el cual presenta una dieta básicamente compuesta de *Phyllostachys aurea* (bambú) (Sims et al., 2007, Sánchez Trocino, 2009, Zhang et al., 2009). Distintos investigadores mencionan algunas características que contribuirían a un mejor aprovechamiento de los nutrientes, como son músculos maseteros muy desarrollados, molares y pre-molares muy fuertes lo que permite

romper fácilmente la pared celular del bambú; es decir, la masticación, incrementa la disponibilidad de nutrientes y facilita la digestibilidad de estos. Dentro de las características del intestino grueso, es que aloja a simbiontes microbianos, aunque su contribución a la fermentación en la digestión es probablemente limitada debido al bajo tiempo de retención del alimento (Dierenfeld et al., 1982, Li, 1986, Sims et al., 2007, Sánchez Trocino, 2009).

Como se mencionó en el capítulo anterior, los cánidos es otro grupo de carnívoros que consumen material vegetal (Arruda Bueno and Motta-Junior, 2004; Nuñez and Bozzolo, 2006; Fortín et al., 2007; Rocha et al., 2008; Varela et al., 2008; Murdoch et al., 2009; Paralikidis et al., 2010). Son numerosos los trabajos realizados con perros domésticos, en los cuales se modifica el contenido de fibra en la dieta, en relación a la cantidad y la variedad de los carbohidratos. Estos estudios tienen como objetivo, la preparación de alimentos balanceados que optimicen la nutrición de estos cánidos. Contenidos menores a 7% de fibra dietaria total, en la dieta, dan resultados positivos, ya que se puede observar la producción de ácidos grasos de cadenas cortas, los cuales tienen importancia fisiológica (Fahey, Jr et al., 1992; Sunvold et al., 1995). Los trabajos realizados en cánidos silvestres, son escasos y tienen como objetivo general, estudiar el efecto de la fibra consumida sobre los procesos digestivos, como es la digestibilidad de materia y energía. Los resultados que se han obtenido muestran que frente a dietas con altos contenidos de fibra, la digestibilidad del alimento y del Nitrógeno (N), se reduce significativamente (Faulkner and Anderson, 1991; Oystein et al., 2003; Silva et al., 2005).

La nutrición animal no solo depende del tipo de alimento, sino también de las estrategias digestivas de cada grupo (Bozinovic, 1995; Silva et al., 2005). El consumo de frutos, disminuye la digestibilidad, por lo que se incrementa la tasa de consumo del alimento y hay una disminución en el tiempo de retención de este (Silva et al., 2005). En la dieta de *Lycalopex griseus*, se observa la presencia de frutos de *Prosopis torquata* durante todo el año, en una frecuencia mayor al 27%, en este sentido resulta de relevancia conocer, como afectan los diferentes contenidos de fibra en el alimento a los procesos digestivos, como la digestibilidad del alimento, N y FDN, el peso corporal y tiempo de retención.

Las dietas que presentan altos contenidos en fibras están asociadas a bajos contenidos de proteína (Robbins, 1993; Fournier and Thomas, 1997). Un carnívoro con

las características de *L. griseus*, debe cubrir requerimientos mínimos de este nutriente para mantener actividades metabólicas fundamentales que aseguren la supervivencia de los individuos (Maynard et al., 1979; Degen, 1997; Hill et al., 2004; Karasov and Martínez del Río, 2007). Zorros colorados (*Pseudalopex culpaeus*) criados en cautiverio requieren un consumo de proteína de carne equivalente al 22% del consumo de energía metabolizable para mantenimiento (National Research Council, 1982). Por otro lado, las capacidades máximas de digestión y asimilación de nutrientes representan un límite fisiológico que posee derivaciones de tipo ecológicas y comportamentales y que determinan a priori cuáles serían los hábitats disponibles para los individuos (Degen, 1997, Costa, 1995). Conocer la respuesta de *L. griseus* frente a dietas con diferentes contenidos en proteína, permitirá establecer relaciones de tipo nutricionales.

De lo anterior surgen las siguientes hipótesis:

H₁: El contenido en fibra de la dieta del zorro afecta la digestibilidad alimento, N y FDN.

Predicción de H₁:

- Los zorros alimentados con alta en fibra, aunque alta en nitrógeno reducirán la digestibilidad del alimento, del N y FDN.

H₂: El contenido proteico de los frutos de leguminosas no satisface los requerimientos mínimos de proteína del zorro gris.

Predicción de H₂:

- Una dieta artificial con igual contenido proteico de frutos de *P. torquata*, no satisfará los requerimientos mínimos de nitrógeno de zorros y por lo tanto bajarán de peso y mostrarán un balance negativo de N.

H₃: La ingestión de fibra modifica el tiempo de retención

Predicción de H₃:

- A mayor contenido de FDN en la dieta menor es el tiempo de retención.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en la localidad de Hualtarán, en el Parque Nacional Sierra de las Quijadas descrito en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 1. Los experimentos realizados para poner a prueba las hipótesis del presente capítulo tuvieron una duración total de 75 días, teniendo en cuenta días de experimentación y estabilización.

Dietas con diferentes contenidos de fibra.

Durante todo el cautiverio, los animales tuvieron una dieta Control, la cual mantuvo en términos generales, la composición química. En algunos casos, se ensayaron diferentes formas de administrarla, garantizando que no hubiera pérdida de comida, que resultara palatable y que no les ocasionara trastornos. La dieta fue administrada como:

1.- La dieta Control seca dentro de tripa de papel, cada porción de tripa más alimento pesó 25 gr y por día se le daban 8 raciones a cada zorro. Esta metodología no dio resultado ya que al estar expuesta durante todo el día a la intemperie, la tripa se resecaba, se rompía y se perdía el contenido.

2.- Se utilizó gelatina sin sabor como aglutinante y fuente de proteína y se armaron panes. Y si bien se evitó la pérdida de alimento, se aumentó la cantidad de carbohidratos y esto provocó diarrea en los individuos.

3.- Por último se utilizó carne molida como aglutinante y como fuente de proteína y lípidos. Esta forma de administrar la dieta resultó óptima ya que no se perdió alimento, resultó altamente palatable y no se registraron trastornos digestivos en los zorros.

Cada una de estas dietas implicó modificaciones en los ingredientes que la componían pero no en el porcentaje de proteína, fibra, vitaminas y minerales, lípidos y carbohidratos. La dieta utilizada como Control se compuso de carne molida vacuna, almidón de maíz, salvado de trigo, mix de vitaminas y minerales y harina de hueso.

Diseños experimentales

Se realizaron cuatro experimentos relacionados a los diferentes contenidos de FDN, 10% vs 19%, 10% vs 23%, 10% vs 36%, 42%. El tiempo de duración de cada tratamiento fue variable (Tabla 3.1), con el tratamiento del 42% FDN se realizó una excepción, ya que no se contrapuso con un control, esta decisión se fundamentó en

que los animales llevaban en cautiverio cinco meses y aún quedaban tres experimentos más.

Tabla 3.1. Composición química de la dieta control (10) y las dietas tratamiento (19, 23, 36, 42). Se indican los errores estándar.

Dietas (%FDN)	N	Lípidos %	Proteína %	FDN%	Almidón%	Días ^a experimento
10 ^c	6	20,1 ± 0,4	31,9 ± 1,5	9,8 ± 0,3	37,4 ± 1,3	
19	6	18,7 ± 0,2	35,2 ± 0,9	18,7 ± 2,4	30,1 ± 0,1	28 (18-10)
23	6	21,8 ± 1,1	32,5 ± 0,9	23,14 ± 3,2	20,6 ± 1,7	28 (18-10)
36	6	4,3 ± 0,1	33,1 ± 0,9	35,5 ± 0,4	17,9 ± 1,4	24 (14-10)
42	6	4,3 ± 0,1	22,1 ± 1,7	42,1 ± 0,4	23,7 ± 0,6	12 (7-5)

10^c: dieta control

a: Días de experimentación: los n° entre paréntesis son días de tratamiento y estabilización, el diseño experimental es cruzado (*crossing over*).

n: número de zorros en cada tratamiento.

El diseño experimental utilizado fue cruzado, *crossing over*. Se conformaron dos grupos de 3 animales cada uno, asignados al azar. El grupo A fue alimentado con la dieta control la cual tiene un contenido en fibra del 10% FDN, el grupo B se lo alimentó con la dieta tratamiento. Posteriormente, los zorros que fueron alimentados con la dieta tratamiento, pasaron a control y el otro grupo al tratamiento (Tabla 3.2). Día por medio, se retiraban los animales de las jaulas, se los colocaba en una jaula alternativa y se los pesaba. Se lavaban las jaulas con agua y desinfectante, posteriormente se ubicaban los animales. En ninguno de estos casos, a los zorros se les administraba tranquilizantes. Todos los días, se les daba la ración de alimento que le correspondía y agua *ad libitum*, se retiraba el alimento sobrante del día anterior y se extraían las fecas.

Tabla 3.2. Esquema del diseño cruzado (*crossing over*). Dieta control 10% vs dieta con diferentes contenido en FDN.

Zorro	Grupo	Experimento	Estabilizado	Experimento	Estabilizado
1	A	Dieta Control 10% FDN	Dieta Control agua <i>ad libitum</i>	Dieta Trat FDN	Dieta Control agua <i>ad libitum</i>
2					
3					
4	B	Dieta Trat FDN		Dieta Control 10% FDN	
5					
6					

Tiempo de retención

Adicionalmente, se incorporaron experimentos para estimar tiempo de retención en dietas con un contenido de fibra de 10%, 19%, 23% y 36%. En breve, a la mitad de cada experimento se le agregaron 100 mostacillas a la ración diaria por única vez (hora 0). A partir de ese momento y cada dos horas durante las siguientes 48hs se colectaron todas las fecas de cada individuo. En cada una de las fecas se contó el número de mostacillas presentes y el tiempo de retención medio (TRM) se determinó como:

$$TRM = \frac{\sum m_i t_i}{\sum m_i}$$

donde m_i es el número de mostacillas excretada en la feca i en el tiempo t .

También se realizó un ensayo de tiempo de retención con semillas de frutos de *P. torquata* en carne molida. De esta forma se simularía una dieta natural. Las mediciones de tiempo fueron iguales a las ya expuestas.

Experimento de variaciones en el consumo de dietas con diferentes contenidos en Nitrógeno (N)

Los animales fueron divididos al azar, en tres grupos de 2 individuos cada uno. A un grupo se lo alimentó con una dieta alta en proteínas, 44%, que representa el contenido aproximado en nitrógeno de roedores, otro grupo se alimentó con una dieta baja en proteína, 7%, el cual es ligeramente inferior al contenido en nitrógeno de los frutos de *P. torquata* y el tercer grupo fue alimentado con una dieta de 17% en proteína (Tabla 3.3). Los requerimientos mínimos de nitrógeno se estimaron como el consumo necesario de N (proteínas) para mantener la masa corporal constante. Se recolectaron fecas, alimento no consumido y orina en el tercer y quinto día. Los

requerimientos mínimos de nitrógeno fueron estimados como el consumo del mismo (proteínas) necesario para garantizar el balance de dicho nutriente.

Tabla 3.3: Esquema de la Metodología de trabajo para determinar requerimiento de nitrógeno.

Zorro	Grupo	Estabilizado	Experimento
1	A	Dieta Control agua <i>ad libitum</i>	Dieta 7% Proteína
2			
3	B		Dieta 17% Proteína
4			
5	C		Dieta 44% Proteína
6			
Días de experimentación		5	5

Debido a la baja abundancia de frutos de *P. torquata* y al alto esfuerzo de recolección (para 300 gr de frutos, es necesario cuatro horas, dos personas), las dietas fueron preparadas artificialmente con harina de pescado, almidón de maíz, mix de vitaminas y minerales, salvado de trigo, ceniza de hueso y carne molida, especialmente para cada tratamiento.

Digestibilidad

La digestibilidad es el índice que cuantifica el proceso de transformación que sufren los alimentos en el tracto digestivo desde su ingestión hasta su excreción. Se expresa como:

$$\text{Digestibilidad, \%} = ((\text{consumo } i - \text{excreción } i) / \text{consumo } i) * 100$$

donde *i* es el ítem a medir.

Los valores de digestibilidad obtenidos son aparentes, ya que las fecas analizadas contienen residuos endógenos como bacterias, secreciones digestivas no absorbidas (Karasov and Martínez del Río, 2007).

Análisis estadísticos

Las variables diferencia de peso, consumo de alimento, consumo de nitrógeno, consumo de fibra, material fecal excretada, nitrógeno excretado en heces, digestibilidad de nitrógeno, alimento y fibra fueron analizadas con un análisis de la varianza de dos factores con interacción (orden de experimentación vs tratamiento). También se analizaron todos los tratamientos en conjunto mediante análisis de la varianza (ANAVA) de manera de presentar un escenario comparativo de los efectos de la fibra sobre la fisiología digestiva de *L. griseus*. Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas mediante test de Tukey. El programa estadístico utilizado fue SYSTAT (Wilkinson, 1997)

RESULTADOS

El análisis químico muestra que las dietas experimentales contienen entre 7% y 44% de proteína, mientras que la dieta natural presenta entre 4% y 57%. La dieta artificial más alta en proteína (44%) es más baja que el contenido de proteína de los roedores y que los insectos (56% y 65% respectivamente), los cuales son consumidos durante todo el año. La más baja 7,5% es similar o menor que cualquiera de los otros contenidos de proteína en la dieta natural (Fig. 3.1). En la dieta artificial de FDN, no hay diferencia en el contenido de proteína entre los tratamientos ($F_{3,11}=1,28$, $p=0,33$).

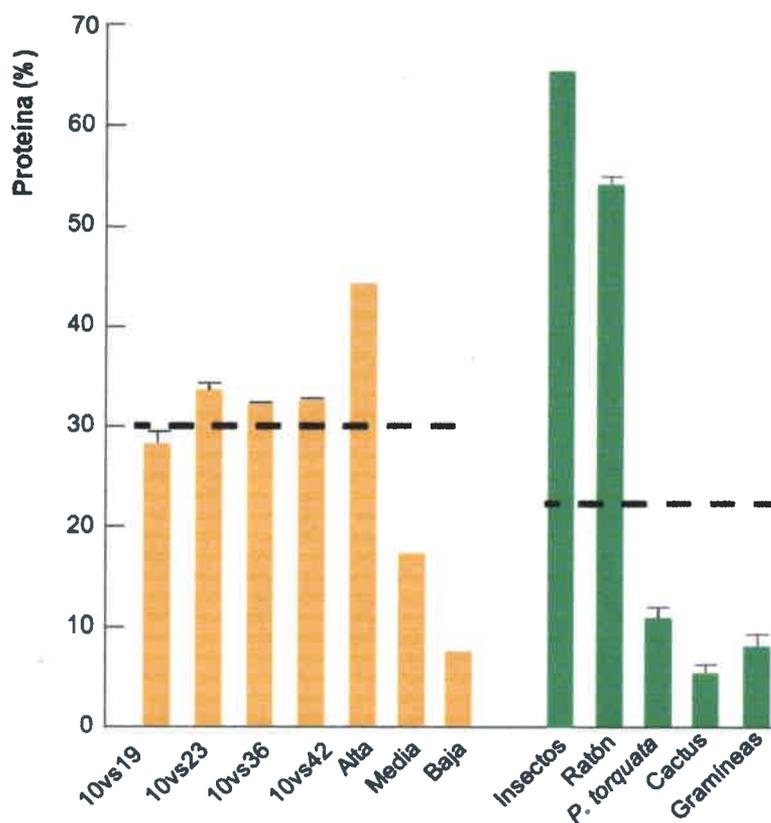


Figura 3.1. Contenido de proteína de las dietas experimentales y naturales. Las barras indican error estándar y la línea punteada indica la media.

Con respecto a los análisis químicos referidos a FDN, se observa que las medias de las dietas artificiales son dos veces más pequeñas que la correspondiente a los frutos de *P. torquata* (Fig. 3.2). Se analizó FDN solo para los frutos, ya que en la dieta natural están presentes durante todo el año y en una frecuencia mayor al 25% (estación seca), es el recurso vegetal mas consumido.

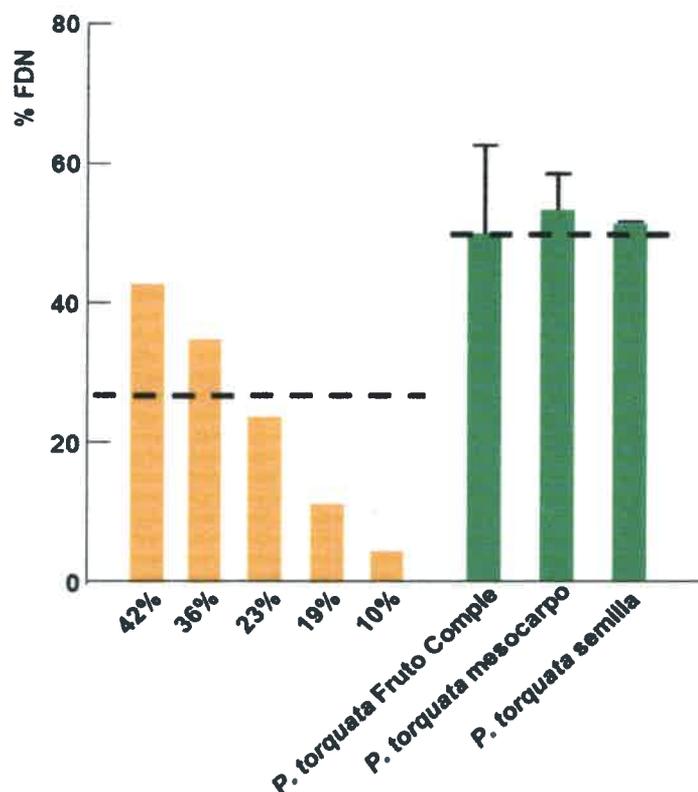


Figura 3.2. Contenido de FDN de las dietas experimentales y de frutos de *P.torquata*. Las barras indican error estándar y la línea punteada indica la media.

Experimentos con distintos contenidos de FDN (Fibra detergente neutra)

Los resultados generales de los experimentos donde se comparan control (10% de FDN contra cualquiera de los otros niveles de FDN (19, 23, 36 y 42%) son variables. Pero en general se observa que los mayores efectos (mayor número de variables afectadas por la fibra) se dan a niveles intermedios de fibra 23% y 36%. Se observa además que a esos mismos niveles de fibra el orden en el que fueron expuestos los animales a los tratamientos tuvo un efecto significativo (Tabla 3.4 y continuación).

Tabla 3.4. Resultados de la estadística para efectos del tratamiento y orden en la experimentación. Para cada par de comparaciones entre control (10% y tratamiento 19, 23, 36 y 42% NDF). Los grados de libertad de los factores e interacción es 1 y el del error 8 para todos los casos. En negritas se expresan los valores de p menores a 0,05.

10 vs 19			10 vs 23		
	F	valor p		F	valor p
Diferencia en Peso			Diferencia en Peso		
Orden	0,4	0,554	Orden	0,0	0,86
Tratamiento	0,3	0,618	Tratamiento	6,5	0,034
Interacción	1,7	0,227	Interacción	3,8	0,087
Consumo de alimento			Consumo de alimento		
Orden	0,7	0,428	Orden	16,4	0,004
Tratamiento	0,1	0,723	Tratamiento	0,0	0,914
Interacción	2,4	0,158	Interacción	0,3	0,605
Consumo de Nitrógeno			Consumo de Nitrógeno		
Orden	0,8	0,392	Orden	16,2	0,004
Tratamiento	3,3	0,108	Tratamiento	0,1	0,723
Interacción	2,5	0,152	Interacción	0,2	0,633
Excreción de heces			Excreción de heces		
Orden	3,0	0,123	Orden	7,6	0,025
Tratamiento	1,4	0,274	Tratamiento	6,9	0,03
Interacción	3,0	0,123	Interacción	2,5	0,156
Nitrógeno fecal			Nitrógeno fecal		
Orden	3,0	0,119	Orden	9,2	0,016
Tratamiento	1,2	0,311	Tratamiento	10,6	0,012
Interacción	3,5	0,099	Interacción	0,9	0,372
Digestibilidad alimento			Digestibilidad alimento		
Orden	2,0	0,198	Orden	12,7	0,007
Tratamiento	1,4	0,267	Tratamiento	2,2	0,177
Interacción	1,3	0,29	Interacción	1,5	0,252
Digestibilidad Nitrógeno			Digestibilidad Nitrógeno		
Orden	2,6	0,143	Orden	24,8	0,001
Tratamiento	0,1	0,719	Tratamiento	6,0	0,039
Interacción	2,7	0,142	Interacción	0,8	0,405
Consumo de FDN			Consumo de FDN		
Orden	1,5	0,26	Orden	10,4	0,012
Tratamiento	78,6	0,001	Tratamiento	86,6	0,001
Interacción	2,8	0,135	Interacción	0,9	0,382
Digestibilidad de FDN			Digestibilidad de FDN		
Orden	6,8	0,031	Orden	19,731	0,002
Tratamiento	31,8	0,001	Tratamiento	35,101	0,001
Interacción	0,2	0,705	Interacción	5,131	0,053

Tabla 3.4 Continuación

10 vs 36			10 vs 42		
Diferencia en Peso	F	valor p	Diferencia en Peso	F	valor p
Orden	58,4	0,001	Orden	0,1	0,716
Tratamiento	224,9	0,001	Tratamiento	28,3	0,001
Interacción	39,6	0,001	Orden*Tratamiento	1,7	0,226
Consumo de alimento			Consumo de alimento		
Orden	12,0	0,009	Orden	3,1	0,115
Tratamiento	4,5	0,067	Tratamiento	1,0	0,345
Interacción	17,0	0,003	Orden*Tratamiento	8,0	0,022
Consumo de Nitrógeno			Consumo de Nitrógeno		
Orden	11,4	0,01	Orden	4,7	0,062
Tratamiento	2,5	0,149	Tratamiento	16,5	0,004
Interacción	16,4	0,004	Orden*Tratamiento	9,6	0,015
Excreción de heces			Excreción de heces		
Orden	19,8	0,002	Orden	0,0	0,961
Tratamiento	15,8	0,004	Tratamiento	1,2	0,311
Interacción	26,5	0,001	Orden*Tratamiento	0,0	0,933
Nitrógeno fecal			Nitrógeno fecal		
Orden	9,0	0,017	Orden	0,0	0,856
Tratamiento	5,6	0,045	Tratamiento	0,6	0,472
Interacción	16,7	0,004	Orden*Tratamiento	0,0	0,979
Digestibilidad alimento			Digestibilidad alimento		
Orden	6,7	0,032	Orden	0,2	0,66
Tratamiento	7,9	0,023	Tratamiento	1,3	0,281
Interacción	9,6	0,015	Interacción	0,6	0,454
Digestibilidad Nitrógeno			Digestibilidad Nitrógeno		
Orden	2,7	0,14	Orden	0,0	0,831
Tratamiento	2,8	0,134	Tratamiento	0,0	0,988
Interacción	7,9	0,023	Orden*Tratamiento	0,3	0,594
Consumo de FDN			Consumo de FDN		
Orden	0,8	0,391	Orden	0,0	0,994
Tratamiento	121,4	0,001	Tratamiento	113,2	0,001
Interacción	3,0	0,119	Orden*Tratamiento	1,9	0,206
Digestibilidad de FDN			Digestibilidad de FDN		
Orden	4,075	0,078	Orden	0,455	0,5
Tratamiento	1,628	0,238	Tratamiento	0,427	0,5
Interacción	5,292	0,05	Interacción	0,001	1,0

Cuando se comparan los tratamientos entre sí se observa que los pesos de los animales en los distintos experimentos mostraron diferencias, pudiendo observarse una pérdida de peso significativa en los experimentos de mayor contenido en FDN, 36% y 42% (Fig. 3.3 A). Para los casos de consumo de alimento y de N, se presentaron diferencias significativas en ambos casos. El tratamiento de 23% fue mayor en las dos determinaciones (Fig. 3.3 B y C respectivamente). Con respecto a

las fecas, tanto para los g excretados como la cantidad de N, las diferencias fueron significativas (Fig. 3.3 D y E respectivamente).

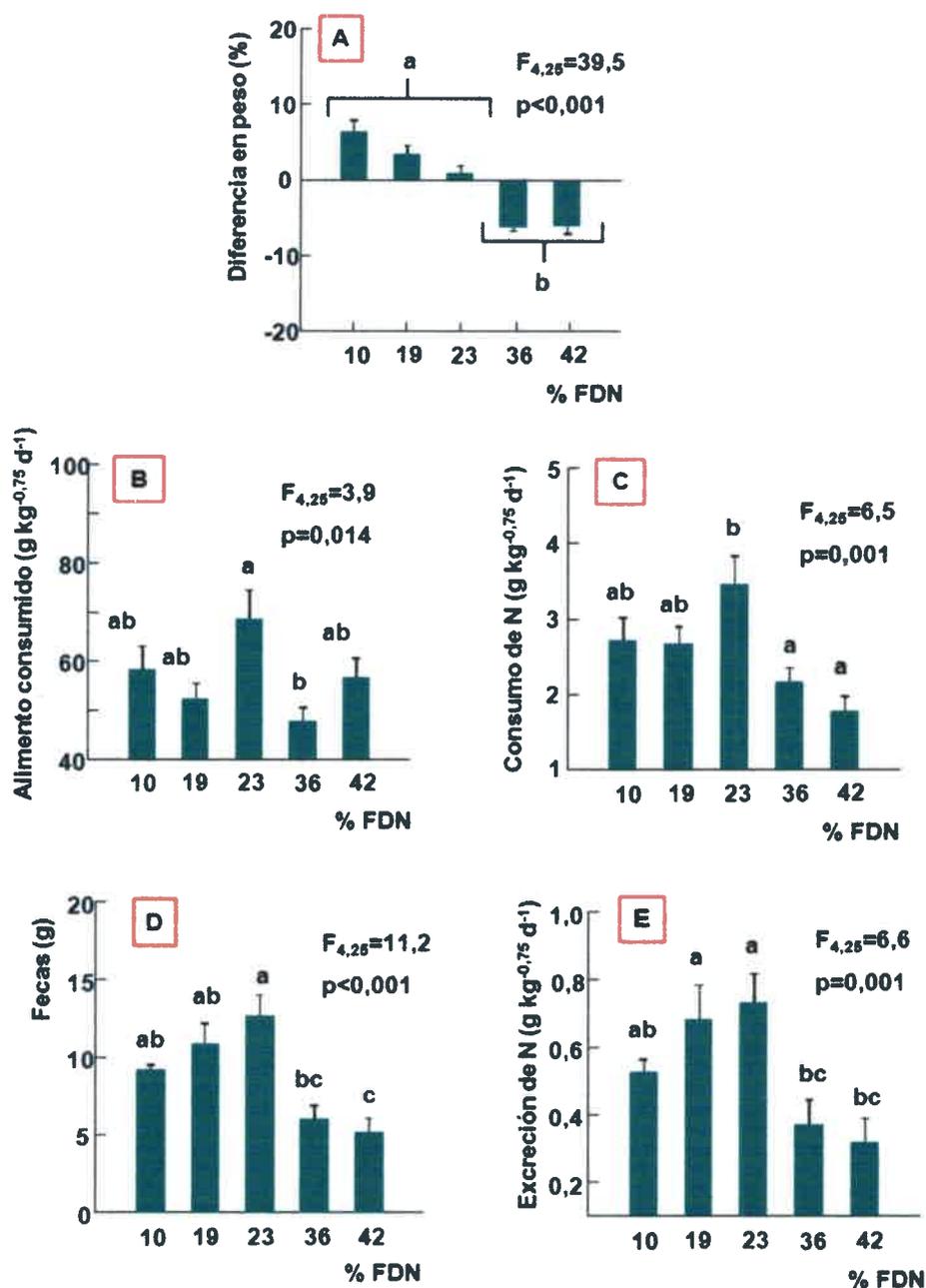


Figura 3.3: A- Diferencia en los pesos de los animales. B- gr de alimento consumido por kg^{-0,75} de animal por día. C- gr de N consumido por kg^{-0,75} de animal por día. D- gr de fecas excretadas. E- gr de N excretado por kg^{-0,75} de animal por día. En todas las gráficas, se compara entre experimentos y las barras indican error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre medias (Prueba *a posteriori* de Tukey $p<0,05$).

La diferencia en el consumo de FDN fue significativa entre los ensayos (Fig. 3.4 F), esto se relaciona con el contenido de FDN en cada una de las dietas. Las tres determinaciones de digestibilidad, la del alimento, de N y FDN muestran diferencias en los tratamientos (Fig. 3.4. G, H e I respectivamente).

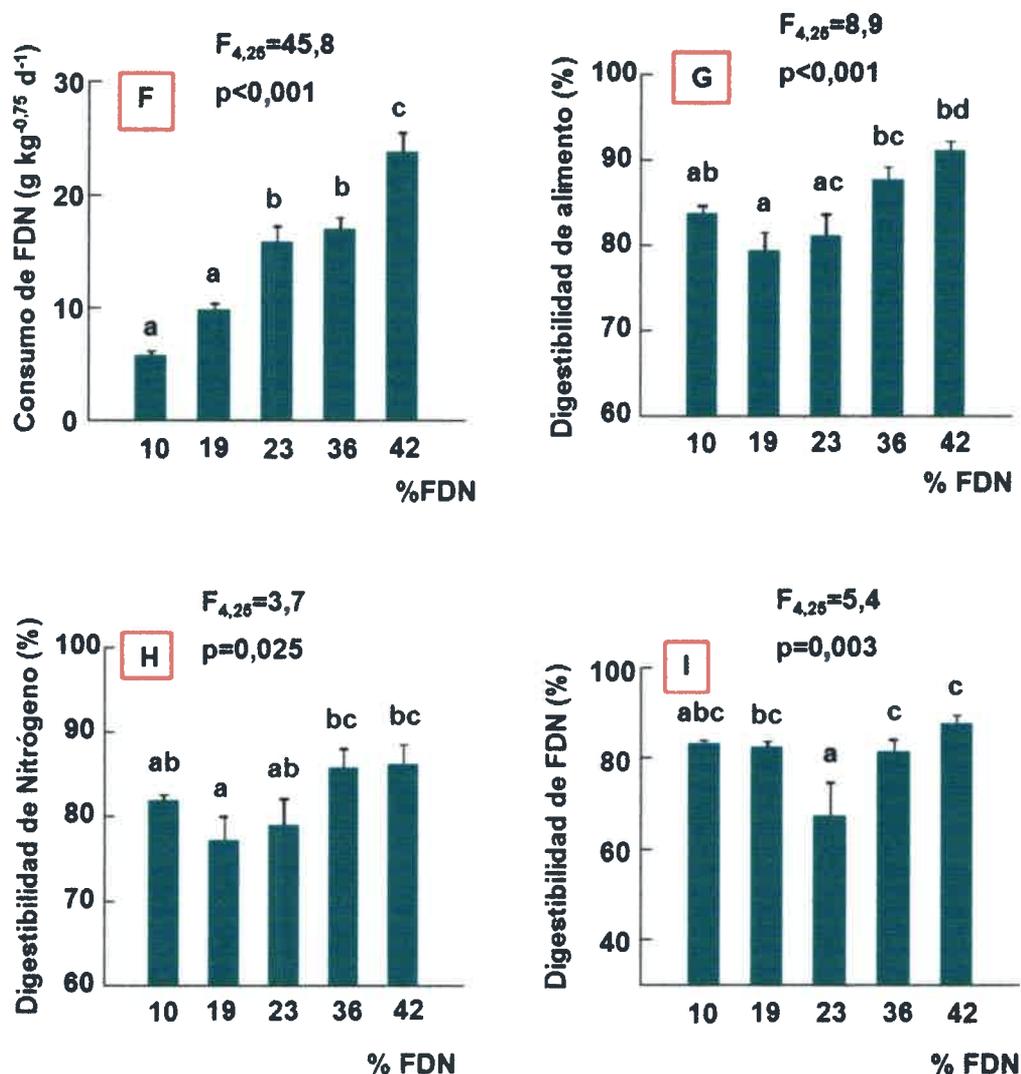


Figura 3.4. F- Gramos consumidos de NDF por kg^{-0,75} de animal por día. G- Digestibilidad del alimento. H- Digestibilidad de N. I- Digestibilidad de FDN. En todas las gráficas, se compara entre experimentos y las barras indican error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre medias (Prueba *a posteriori* de Tukey $p<0,05$).

Los resultados de los ensayos de retención en los experimentos con distintos contenidos en NDF, muestran una disminución en el tiempo de retención a mayor porcentaje de fibra en la dieta (Fig. 3.5).

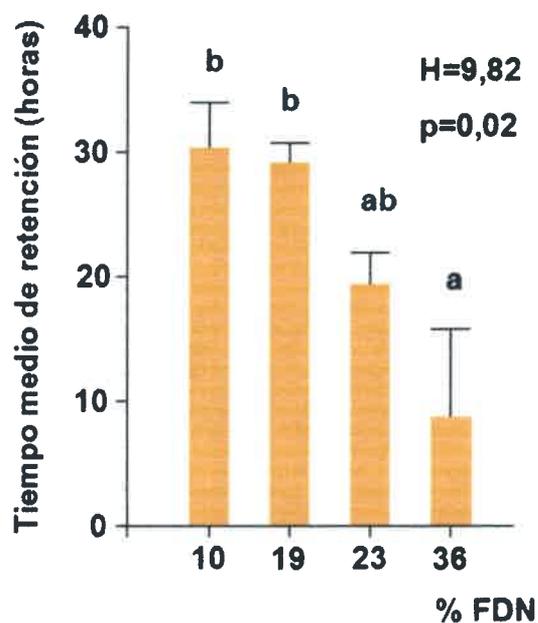


Figura 3.5: Tiempo de retención de las distintas dietas artificiales. Las barras indican error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre medias (Prueba *a posteriori* de Tukey $p < 0,05$).

La comparación entre el tiempo de retención de las dietas artificiales y la dieta con carne molida y semillas de frutos de *P. torquata*, mostró diferencia significativa. Se puede observar que los valores entre la dieta de 10% y 19% de fibra y la que contenía las semillas, no hay diferencia (Fig. 3.6).

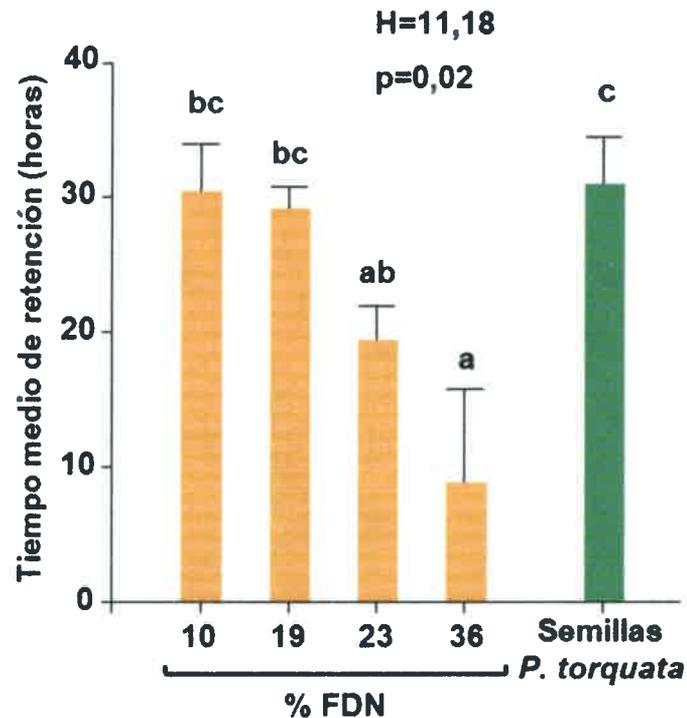


Figura 3.6: Tiempo de retención de las distintas dietas artificiales y la dieta con semillas de *P. torquata*. Las barras indican error estándar. Las letras indican diferencias significativas entre medias (Prueba *a posteriori* de Tukey $p < 0,05$).

Experimento con dietas de diferente contenido en proteína.

Con respecto a los resultados sobre el experimento de proteína, se observa que existe una relación positiva entre el N consumido y el N excretado (Fig. 3.7). De la gráfica se estima que bajo esta dieta, un zorro de 4 kilogramos requiere de aproximadamente unos 10 gramos de proteínas por día. Cuando se incorpora más fibra a la dieta (Fig. 3.8) esta cantidad de nitrógeno mínimo podría ser hasta 4 veces mayor.

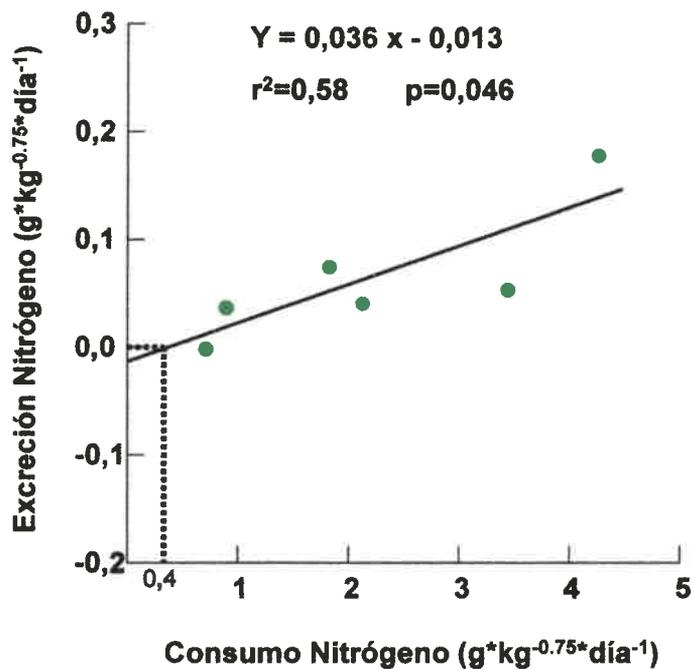


Figura 3.7. Relación entre el consumo y la excreta de nitrógeno, correspondiente a dietas con distintos contenidos en nitrógeno.

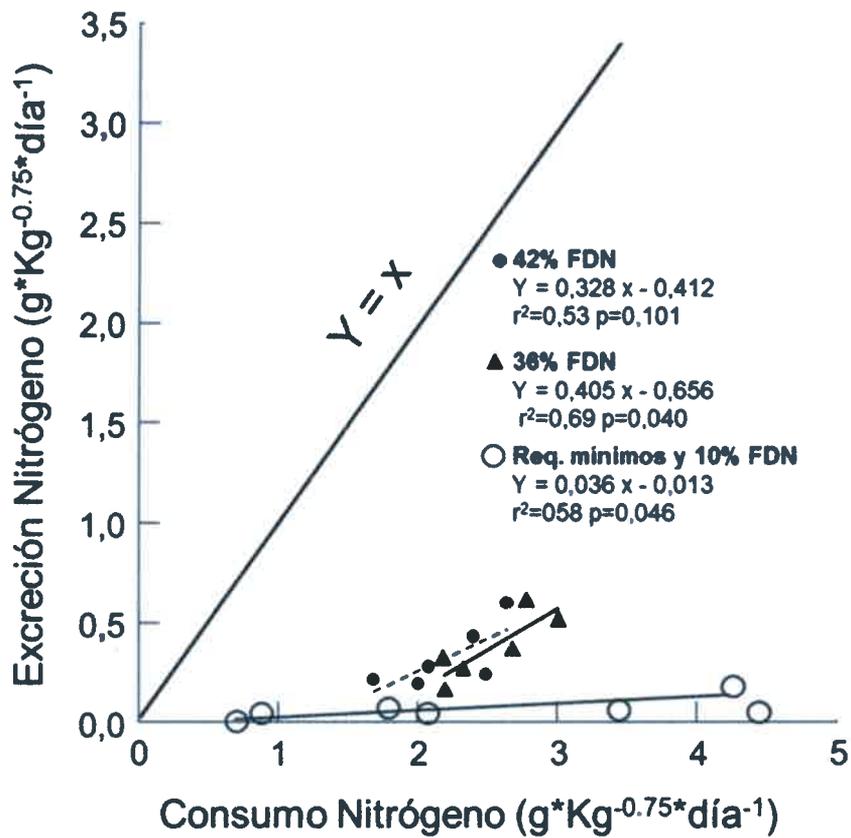


Figura 3.8. Grafico de utilización para la relación entre nitrógeno fecal excretado y nitrógeno consumido por zorros frente a distintas dietas y niveles de FDN. Las pendientes menores a una indican que se absorbe (1- pendiente) de nitrógeno en cada dieta.

DISCUSIÓN

Las dietas artificiales correspondientes a los experimentos para evaluar el efecto del contenido de fibra en la digestibilidad de materia (FDN, alimento y N) presentaron valores aunque más bajos que el contenidos de mamíferos e insectos, muy altos comparados al requerimiento mínimo sugerido para un cánido del tamaño de *L. griseus*, es decir 22% de proteína (National Research Council, 1982; Fletchall et al., 1995; Dell'Arte y Leonardi, 2005).

El balance de masa fue negativo para las dietas con alto contenido de fibra, (Fig. 3.3.A) lo que indica una disminución en el ingreso total de nutrientes y/o energía al organismo. Esto coincide con resultados de otros estudios, realizados con carnívoros (Silva et al., 2005; Karasov and Martínez del Río, 2007), los cuales mencionan que en dietas con altos niveles de fibra, se observa un descenso de peso en los animales. Nuestros resultados, sin embargo difieren con estos autores en cuanto al consumo de alimento, ya que estos mencionan un aumento notable en la ingesta de las dietas ofrecidas con alto contenido en fibra. Esto podría ser un mecanismo compensatorio de la pérdida de energía por sobre ingesta, través del cual intentan cubrir sus requerimientos energéticos y nutricionales, pero aun así pierden peso. Una diferencia con nuestro trabajo es que los trabajos anteriormente citados, no mantienen las cantidades de proteínas estables. Fahey et al., (1990), mostraron un balance positivo en los pesos de los perros que fueron alimentados con dietas isoproteica y con diferentes contenidos en fibra, las cuales contenían como máximo 16,7% de NDF.

El consumo de N se redujo en los dos tratamientos con mayor contenido en fibra, probablemente por una disminución aunque no significativa del consumo de alimento. En la fig. 3.3 B y C, se observa que entre el control y las dietas con mayor contenido en FDN, no hay diferencia en la excreta, esto podría explicarse porque la fibra arrastra N, no solo de lo consumido, sino también de tipo endógeno, como las células y microorganismos del tracto digestivo. Esto sucedería, ya que la fibra es un material refractario, abrasivo (Robbins, 1983; Karasov and Martínez del Río, 2007).

La dieta con porcentaje más alto de FDN entre las dietas artificiales utilizadas en este trabajo (42%), es similar al contenido de fibra en los frutos de *P. torquata* (50% FDN). La digestibilidad del alimento en los distintos ensayos, mostró diferencias significativas, la cual estuvo determinada por las dietas de contenido de FDN

intermedios. No hubo diferencias entre el control y los grupos con mayor contenido en FDN, es decir, que los altos contenidos en fibra no modificarían la digestibilidad del alimento. Esto no coincide con otros trabajos realizados con cánidos, en los cuales se observa una disminución en la digestibilidad del alimento y de nutrientes como el N (Faulkner and Anderson, 1991, Silva et al., 2005, Fortes et al., 2010), el cual no varía entre el control y las dietas de mayor contenido en FDN.

Es evidente que aunque los niveles de FDN sean elevados, *L. griseus* es capaz de digerir nitrógeno. Especies relacionadas entre sí, pueden presentar diferencias en su fisiología digestiva que se correlacionan con el tipo de alimentos que consumen, lo que aporta evidencias comparativas de que la fisiología digestiva evoluciona en paralelo con la dieta (Hill et al., 2006, Price 2012).

En relación al efecto de la fibra sobre la digestibilidad de materia en este trabajo, podemos inferir que *L. griseus* tiene un comportamiento definido en términos de pérdida de masa corporal. Este indicador es inequívoco en cuanto al efecto de FDN sobre el ingreso de energía. Sin embargo las explicaciones mecanísticas que lo sustentan no son tan claras, al menos, de lo que se desprende en nuestro estudio. Como se observa en la fig. 3.3 y 3.4 las variables vinculadas al consumo de alimento, nitrógeno y la excreción de fecas son en términos absolutos, relativamente bajas a altos porcentajes de fibra. Sin embargo las variables vinculadas a la digestibilidad son en general mayores (aunque no todas significativas). Existe entonces, un mecanismo o mecanismos compensatorios en *L. griseus*, no está vinculado con la hiperfagia pero si posiblemente con una regulación a nivel intestinal en la absorción de nutrientes (Robbins, 1983; Karasov and Martínez del Río, 2007).

El tiempo de retención difirió entre las dietas artificiales, siendo menor en los ensayos con mayor contenido en NDF. Este resultado concuerda con otros trabajos en los que se llevaron a cabo experimentos con cánidos silvestres (Faulkner and Anderson, 1991; Silva et al., 2005). Faulker and Anderson (1991), le ofrecieron a *Vulpes vulpes*, dietas artificiales con avena como fuente de fibra, con valores de NDF variados. Observaron una disminución del tiempo de retención dos veces menor que la dieta control. Silva et al (2005), trabajaron con *P. culpaeus* a los cuales le ofrecieron solamente frutos de *S. molle*, el tiempo de retención con respecto al experimento control fue también de dos veces menor. Con respecto a ensayos con cánidos

domésticos, los resultados fueron similares (Fahey et al., 1990, Fahey et al., 1992, Sunvold et al., 1995).

El efecto combinado de la reducción del tiempo de retención (Faulkner and Anderson, 1991, Silva et al., 2005), los efectos de arrastre y quelación de nitrógeno por la fibra (Robbins, 1983, Karasov and Martínez del Río, 2007) reducen 4 veces el tiempo de retención medio de la digesta (ver Fig. 3.6) Sin embargo no tienen ese efecto las semillas de *P. torquata* ofrecidas a los zorros. El particulado de la fibra tal como fue ofrecida a los animales durante el experimento, actuaría en forma diferencial con las semillas del fruto que esta especie ingiere naturalmente en condiciones silvestres. Siendo probablemente la fibra desprendida de exocarpo y mesocarpo de las vainas de *P. torquata* lo que potencialmente pueda alterar el tiempo de retención medio de la digesta.

L. griseus asimila entre el 60% y el 97% del nitrógeno disponible en la dieta dependiendo de proporción de fibra en la dieta o el tipo de disponibilidad del nitrógeno en la dieta (Fig. 3.8). Cuando los zorros consumieron carne molida con fibra, su absorción de nitrógeno fue de aproximadamente el 60 y 70%, cuando se les dio una dieta con proteína en forma de polvo (harina de pescado) la absorción del nitrógeno fue del 97%. Los requerimientos mínimos por lo tanto son variables y dependen de como son obtenidos por el animal (en nuestro caso ofrecidos).

En cualquier caso para nuestros estudios, la incorporación de altas cantidades de fibra dado la alta abundancia de proteína en el ambiente mayor al 50% cuando consume roedores o del 65% si consume insectos o inclusive en proporciones más bajas 30% (nuestro estudio), no modifican sensiblemente el balance nutricional de *L. griseus*. Es decir, en las condiciones estudiadas se observan variaciones que indican un efecto de la fibra sobre el balance del nitrógeno e inclusive un efecto de tipo negativo sobre la masa corporal de los animales, sin embargo la fisiología del zorro no se ve severamente afectada, al menos no compromete su supervivencia en el corto plazo.

L. griseus se comporta como un omnívoro desde el punto de vista trófico, incorporando una diversidad de ítems en su dieta, desde cactus a mamíferos de mediano tamaño. Desde el punto de vista nutricional sin embargo su ingesta mayoritaria la conforman las proteínas de origen animal (mamíferos e insectos) y una

relativamente alta cantidad de fibra. Sin embargo no es posible descartar que los hidratos de carbono sean una fuente de energía para esta especie de zorro. El zorro azul *Alopex lagopus* criado luego de más de 80 generaciones en cautiverio digiere un 14% más carbohidratos y un 8% más de almidón y glucosa específicamente que el zorro del ártico *Alopex lagopus* pero no difieren en la asimilación de lípidos y proteínas (Ahlstrøm Ø et al., 2003). Los autores proponen que esta capacidad es consecuencia de un proceso de selección en el largo plazo. En el desarrollo de esta tesis se midió la digestibilidad del almidón (datos no mostrados) y esta es superior al 90% tan alta como la del zorro azul en cautiverio.

En este capítulo se han puesto de manifiesto algunas de las relaciones entre nutrientes (proteínas) y sustancias refractarias (fibra) quedando de manifiesto que *L. griseus*, se constituye como un buen modelo para el estudio de los efectos de la materia vegetal en la fisiología digestiva de cánidos.

CAPÍTULO IV

Utilización del recurso cactus para la obtención de agua preformada

INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los nutrientes esenciales más importantes, ya que interviene en la mayoría de las funciones corporales, como por ejemplo, participa en reacciones hidrolíticas, controla la temperatura, favorece el transporte y excreción de productos metabólicos, lubrica las articulaciones esqueléticas, transporta el sonido y la luz a los oídos y ojos, entre otras funciones. El contenido de agua en un mamífero adulto se ubica entre el 60% y el 80%, siendo mayor en los juveniles (Robbins, 1983; Degen, 1997). Generalmente, el contenido corporal de grasas y agua es inversamente proporcional, en organismos con sobrepeso, la proporción de agua puede ser tan baja como de un 40%. Los requerimientos de agua pueden estar afectados por numerosos factores como, la temperatura ambiente, la radiación solar, el alimento, diferentes actividades diarias y estacionales (Robbins, 1983; Winstanley et al., 2003).

El balance de agua en un mamífero está dado por su ingesta y pérdida. Existen tres formas para la obtención de este elemento: agua libre, que proviene de lagos, arroyos, charcos, lluvia, rocío; agua preformada, es la contenida en el alimento; agua metabólica, es producto de la oxidación de componentes orgánicos que contienen hidrógeno. Con respecto a la pérdida del agua, puede mencionarse evaporación a través de la piel y por superficies respiratorias, orina, fecas y saliva (Figura 4.1). Durante la lactancia, las hembras también pierden agua por la leche (Robbins, 1983; Karasov 1989; Degen, 1997; Karasov and Martínez del Río, 2007)

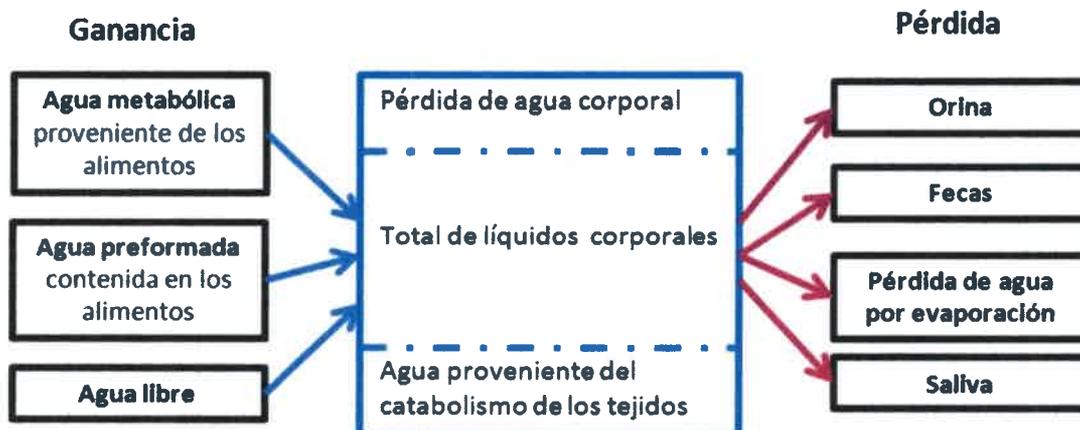


Figura 4.1. Balance de agua en mamíferos (Modificado de Degen, 1997)

En ambientes áridos y semiáridos, la obtención del recurso hídrico puede ser compleja. Una gran cantidad de mamíferos, entre ellos cánidos, que habitan estos ambientes, son capaces de utilizar agua metabólica o de oxidación, para que se lleven a cabo funciones vitales. Este nutriente, proviene de procesos metabólicos, de la oxidación de compuestos hidrogenados, por ejemplo, los hidratos de carbono rinden el 60% de su peso en agua. Las proteínas producen aproximadamente el 40% y las grasas cerca del 90% de su peso en agua (Maynard et al., 1979; Robbins, 1983). Los animales que hibernan, metabolizan sus reservas de carbohidratos y grasas, obteniendo el agua necesaria para los procesos vitales. En el caso del agua preformada, la obtención del recurso hídrico puede ser menor al 10% en alimentos secos, y hasta el 70% o más en alimentos frescos como podrían ser tejidos de animales o plantas y frutos suculentos (Maynard et al., 1979; Robbins, 1983; Degen, 1997; Karasov and Martínez del Río, 2007).

Estudios realizados con cánidos en ambientes áridos y semiáridos (Golightly and Ohmart, 1984; Geffen et al., 1992; Dell'Arte and Leonardi, 2009), mencionan que estos mamíferos utilizan agua preformada y metabólica. Para un carnívoro del tamaño del *L. griseus* (4kg aprox.) se estima que requiere de 260 ml de agua por día (Degen, 1997). En el capítulo II de este trabajo, se demostró que la frecuencia de aparición de cactus (*Opuntia spp* y *Tephrocactus articulatus*,) en las heces de zorro fue 5,8% y 5,6% en la estación seca y húmeda, respectivamente. También sabemos que el porcentaje de agua en los cactus fue de 72% y 74,6% en la estación seca y húmeda respectivamente. Por otro lado conocemos que el porcentaje de agua de un roedor en este ambiente es del 74% y que con la ingesta de tres roedores, por día, un zorro, cubriría sus requerimientos de agua. En este sentido, cobra relevancia analizar si en condiciones experimentales *L. griseus* es capaz de utilizar el agua preformada de cactus como fuente primaria o alternativa de agua.

Se propone entonces la siguiente hipótesis:

H: La ingestión de *Opuntia spp* y/o *T. articulatus* satisface los requerimientos de agua de *L. griseus*.

Predicción de H:

- Los zorros alimentados con una dieta balanceada *ad libitum* pero con *Opuntia spp* y *T. articulatus* como única fuente de agua preformada, tendrán satisfechos los requerimientos de agua, manteniendo su peso corporal constante.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en la localidad de Hualtarán, en el Parque Nacional Sierra de las Quijadas descripto en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 1.

Requerimiento mínimo de agua

El experimento tuvo una duración de 9 días, durante los cuales, a los seis zorros se les suministró alimento balanceado para cachorros *ad libitum* (Performance Plus[®]) el cual presenta una composición química estándar: proteína 30%, lípidos 16%, fibra 3%, minerales 7,5% y como única fuente de agua cladodios de *Opuntia spp* y artejos de *T. articulatus*. Diariamente se les dio 200 gr de alimento balanceado, 1 cladodio de *Opuntia spp* y 5 artejos de *T. articulatus*. En el caso de los cladodios, se les extrajeron las espinas. (Foto 4.1).

Los cactus eran colectados de los alrededores del área donde se encontraban las jaulas. A diario se pesaban los cladodios y los artejos y cada dos días se cambiaban los cactus. El peso promedio de cada cladodio fue de 239 gr y de los cinco artejos juntos de 147 gr. Los individuos fueron pesados día por medio. El final del experimento se ajustó a la pérdida de masa corporal, cancelándose antes del 20%.

Las jaulas fueron cubiertas por nylon negro de alta densidad para no dejar expuestos a los zorros a las bajas temperaturas nocturnas (Foto 4.2). Cada mañana, los nylon eran sacados y colocados nuevamente al atardecer. Una vez que concluyó el experimento, se les suministró agua *ad libitum* y alimento balanceado, registrándose un aumento notable en el consumo de alimento balanceado acompañado del consumo de agua. Los animales fueron pesados durante los tres días posteriores al experimento, de esta manera se controló la recuperación de peso en los zorros.

Análisis estadísticos

Las variaciones en el peso corporal que se registraron por cambios en la oferta de agua se evaluaron estadísticamente utilizando Test t apareado (Di Rienzo et al., 2001, InfoStat).



Foto 4.1. a.- Artejos de *T. articulatus*, cladodio de *Opuntia sp* y alimento balanceado.
b-. Jaula con un zorro y el alimento ofrecido.



Foto 4.2. Jaulas recubiertas con nylon negro de alta densidad.

RESULTADOS

Durante todo el experimento, no hubo consumo de *Opuntia spp* ni de *T. articulatus*. Solo el primer día, se registró el consumo de una porción del alimento balanceado, el resto de los días no comieron. Los pesos corporales entre el primer y último día de ensayo, mostraron una pérdida de peso promedio de 15,4% (Figura 4.2).

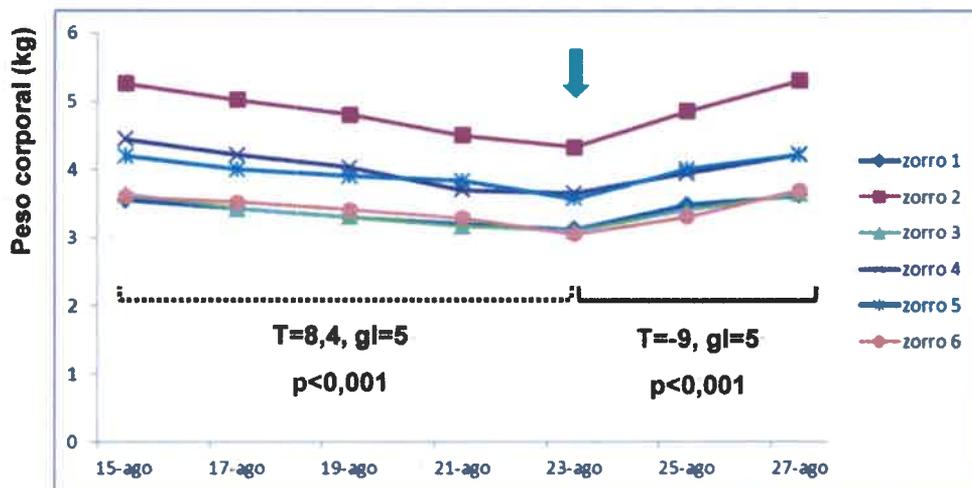


Figura 4.2. Variación en la masa corporal de *L. griseus* durante todo el experimento. La flecha indica el final del experimento.

Al terminar el experimento, a todos los zorros se les ofreció agua ad libitum, alimento balanceado para cachorro y trozos de carne. Se observó un aumento de peso durante los días sucesivos del 8,1% en promedio, el cual fue significativo (Fig. 4.2). Comparando los pesos al inicio del experimento (15 de agosto) y al final del periodo de recuperación (27 de agosto), no se observó diferencia ($T=0,04$, $gl=5$, $p=0,97$).

DISCUSIÓN

Los mamíferos que habitan ambientes áridos y semiáridos, en los cuales la abundancia de alimento y agua es limitado, presentan tasas metabólicas y requerimiento de agua, menores a los mamíferos que habitan ambientes no desérticos. El metabolismo reducido en sí, se considera que es una adaptación a los ambientes áridos, y puede incluso haber evolucionado en respuesta a la selección por la restricción de agua (Geffen et al., 1992; Degen, 1997; Geffen and Girard, 2003; Nagy, 2004; Karasov and Martínez del Río, 2007).

Richmond et al., (1962), sugirieron que la masa corporal se relaciona en forma directa con la pérdida de agua en mamíferos. Estudios posteriores, realizados en mamíferos de ambientes desérticos, mostraron una pérdida de agua menor a la predicha por Richmond et al., esto demostraba la presencia de algún mecanismo de conservación del agua. Algunos de los mecanismos que cooperarían a la economía de agua podrían ser diferentes ajustes fisiológicos, como por ejemplo, menor pérdida por evaporación, orina más concentrada, heces deshidratadas, o a los ajustes de tipo comportamental, disminución de la actividad diurna y aumento de la nocturna, utilización de madrigueras (Maynard et al., 1969; Robbins, 1983; Afik y Pinshow, 1993; Degen, 1997; Nagy, 2004; Karasov and Martínez del Río, 2007). Afik y Pinshow (1993), completaron los resultados del trabajo de Richmond et al., (1962) con datos obtenidos para *Canis lupus pallipes* (lobos) para verano e invierno (Afik and Pinshow, 1993), *Canis latrans* (coyote) y *Vulpes macrotis* (zorros kit), también para ambas estaciones realizadas por Golightly y Ohmart (1984), *Fennecus zerda* (zorro del desierto) por Noll-Banholzer (1979) (Fig. 4.3).

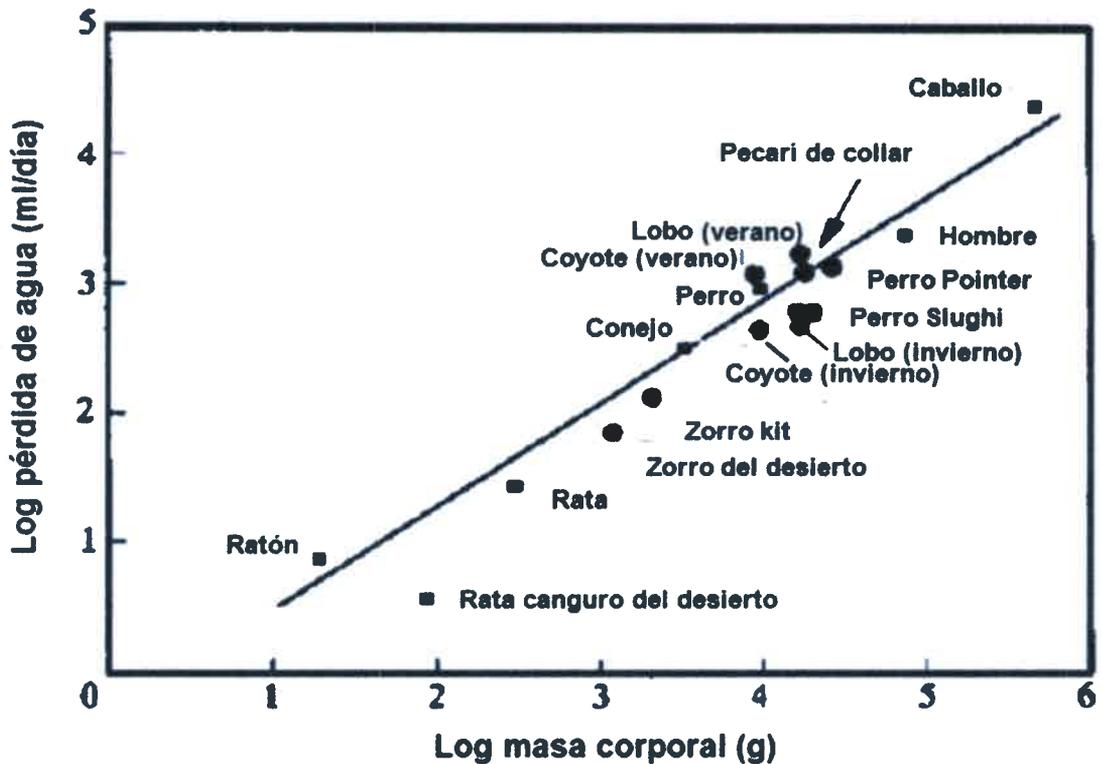


Figura 4.3. Relación del log de la pérdida de agua (ml/día) vs log de la masa corporal (g). La regresión lineal original fue calculada por Richmond et al., (1962). Los círculos son los datos agregados por Afik y Pinshow (1993).

Para grandes cánidos como lobos y coyotes, en verano la pérdida de agua fue mayor mientras que los valores de invierno son menores a los predichos. Teniendo en cuenta estos resultados, los autores concluyen que estos grandes carnívoros, son dependientes del agua libre, no pudiendo sobrevivir solo con el aporte de agua preformada y metabólica, ya que no podrían satisfacer los requerimientos diarios hídricos (Robbins, 1983; Golightly y, Ohmart, 1984; Afik and Pinshow, 1993). Afik y Pinshow (1993), realizaron un experimento con *Canis lupus*, cánido de tamaño mediano, 22 kg promedio, en el cual lo privaron de agua durante 21 hs, el resultado fue la pérdida del 12% del peso inicial. Durante ese período, estuvieron muy inquietos, aumentando aún más la pérdida de agua.

En las especies de cánidos de menor tamaño corporal, que habitan áreas extremas en aridez, la dieta es de gran importancia. Bajo condiciones extremas de sequía y altas temperaturas, consumen grandes cantidades de plantas suculentas

bajas en proteínas pero con altos contenidos en agua. Estudios realizados en pequeños cánidos de Asia, África y América del Norte, muestran que las dietas presentan un alto consumo de invertebrados, diversos frutos y suculentas, estos recursos contribuyen a mantener el balance de agua (Golightly and Ohmart, 1984; Geffen et al., 1992; William, et al., 2002; Geffen and Girard, 2003). Para el caso de *Vulpes macrotis* (zorro kit), un cánido de 1,85 kg promedio, Golightly and Ohmart (1984), mencionan que la producción de agua metabólica es de aproximadamente 17 a 24 ml por día, estos valores cubren más del 18% del requerimiento diario. Esto coincide con lo demostrado por Williams et al., (2002) quienes mencionan que *Vulpes rueppelli*, un cánido de 1,5 kg promedio, produce 26,1 ml de agua metabólica por día. Sin embargo, el agua metabólica puede ser remplazada por agua preformada, a partir del consumo de presas animales. Para el caso de *V. macrotis*, la presencia, en su dieta de *Spermophilus sp* (ardilla, aproximadamente 130 gr), la cual contiene entre 0,5 y 0,6 gr H₂O/gr de peso corporal, por lo que se cubrirían los requerimientos diarios de este pequeño cánido (Golightly and Ohmart, 1984).

En situación de estrés, cuando un animal esta hambriento y privado del consumo de agua, el catabolismo de las proteínas de los tejidos, produce dos o tres veces más agua que en una situación sin estrés (Robbins, 1983). Durante los días de experimentación con *L. griseus*, ninguno de los seis zorros orinó ni defecó, por lo que hubo una reducción importante en la pérdida de agua. Sumado a esto, los individuos se mantuvieron en reposo, si bien no fue sistematizado, se pudo observar como los animales se mantuvieron menos activos durante el experimento, es decir, también hubo un ajuste de tipo comportamental, disminuyendo el gasto energético y colaborando en evitar la pérdida de agua corporal.

L. griseus no consumiría cactus como fuente alternativa de agua preformada. Aun cuando estos son ingeridos en condiciones naturales por esta especie, se desconocen hasta el momento las condiciones por las cuales estos animales consumen cactus. El agua preformada utilizada por *L. griseus*, podría tener un origen animal, siendo los pequeños mamíferos una óptima opción para ello. Con lo expresado anteriormente por numerosos autores y por nuestros resultados, podemos concluir que este cánido pequeño, podría habitar ambientes sin agua libre. Esta independencia, le permitiría a esta especie y otras con características similares, ampliar y utilizar

diferentes áreas. Futuros estudios podrían estar relacionados con mediciones con agua marcada, lo cual permitiría conocer el intercambio de agua en estos cánidos.

CAPÍTULO V

**Actividad estrogénica del fruto de *Prosopis torquata* en
ratas Wistar**

INTRODUCCIÓN

El consumo de plantas por diferentes especies de animales es de una gran relevancia, como se demuestra en la bibliografía disponible desde principios del siglo XX (Bradbury and White, 1954; Labov, 1976; Rode and Robbins 2000; Rode et al. 2001; Pérez-Rivero et al., 2007). La literatura abunda en referencias respecto de la presencia de frutos en la dieta de carnívoros (Ball and Golightly, 1992; Rode and Robins, 2000; Rode et al. 2001; Santos et al., 2003; Donadio et al., 2004; Arruda Bueno and Motta-Junior, 2004; Nuñez and Bozzolo, 2006; Fortín et al., 2007; Rocha et al., 2008; Varela et al., 2008; Murdoch et al., 2009; Paralikidis et al., 2009), sólo que en algunos casos no es posible explicarla, ni por su valor energético y nutricional y sólo puede ser explicado por la abundancia y disponibilidad relativa en el ambiente de este recurso (Rode y Robbins 2000). Múltiples estudios han puesto de manifiesto el rol de ciertos compuestos de plantas con funciones hormonales, comúnmente llamados estrogénomimicos o en términos más particulares y por provenir de plantas, fitoestrógenos (Labov, 1977; Chamley et al., 1985; Baker, 1997; Wynne-Edwards, 2001; De Naeyer et al., 2005). Las leguminosas son el grupo de plantas con mayor cantidad de fitoestrógenos de acción comprobada (Tolleson et al. 2002; Pisani et al., 2001; Lee et al., 2004). Numerosos estudios indican un efecto directo de ciertos fitoestrógenos en la estimulación o inhibición de hormonas sexuales o precursores de hormonas sexuales. El mecanismo de acción de estos compuestos se debería a la afinidad por receptores hormonales o a través de enzimas que participan del metabolismo de hormonas (Baker 1995; Labov, 1977; Chamley et al., 1985; Baker, 1997; Wynne-Edwards, 2001; Pérez-Rivero et al., 2007).

Algunas de las especies vegetales que presentan fitoestrógenos son las del género *Prosopis*, perteneciente a la familia de las Fabáceas, caracterizadas por contener un alto porcentaje de isoflavonas (Tolleson et al., 2002; Perez-Rivero et al., 2007). Una de las especies encontradas en la provincia fitogeográfica del Monte es *Prosopis torquata* (Cabrera y Willink, 1980). Sus frutos están disponibles en ambas estaciones y son consumidos, entre otros animales, por *Dolichotis patagonum* y *Lycalopex griseus*, en ambos se observó la aparición de vainas y semillas en las heces (Sombra y Mangione, 2005; Nuñez y Bozzolo, 2006). Diversos trabajos mencionan que los fitoestrógenos contenidos en diferentes dietas, pueden presentar resultados favorables, como la regulación del ciclo reproductivo en conejos y ratones de campo,

o desfavorables, como folículos hemorrágicos, abortos, síndrome estrogénico, y supresión de picos de hormona luteinizante (LH) en las hembras, mientras que en los machos se altera el desarrollo testicular y disminuye el recuento de espermatozoides (Gallo et al., 1999; Degen et al 2002; Pérez-Rivero et al., 2007; Carrasco et al., 2010).

En nuestro caso de estudio, el período de nacimientos de zorros en Sierra de las Quijadas coincide con la finalización de la estación seca, periodo durante el cual, el consumo de vaina de *P. torquata* es significativamente mayor al de la estación húmeda. Surge el interrogante si el consumo de estos frutos podrían estar regulando el ciclo reproductivo de los zorros de manera favorable en estos cánidos, por lo que en este capítulo se analizó la acción biológica de los frutos de *P. torquata*. La complejidad requerida para la realización de experimentos en zorros (captura, cautiverio, controles y análisis de sangre y tejidos, permisos especiales) y la relativa simplicidad del trabajo con modelos animales de menor tamaño llevó a estudiar el efecto de una fracción de los frutos de *P. torquata* en la actividad fitoestrogénica de los frutos en el ciclo reproductivo utilizando como modelo a ratas hembras prepúberes Wistar.

Se propone entonces la siguiente hipótesis:

H: El consumo de frutos de *P. torquata* modifica las variables reproductivas de ratas Wistar hembras prepúberes.

Predicción de H:

Las ratas Wistar alimentadas con frutos de *P. torquata*, experimentarán alteraciones en el peso e histología de su órganos reproductores y tiempo de apertura vaginal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material

El área de recolección de frutos de *P. torquata*, fue en la localidad de Hualtarán, ubicada a 120 km al noroeste de la ciudad de San Luis en los departamentos Belgrano y Ayacucho (32° 20' y 32° 47' lat. S., 67° 10' y 66° 58' long. O.) (Peña Zubiate et al., 1998). Los frutos colectados fueron los que se encontraron en el suelo.

Preparación de la dieta

Los frutos de *P. torquata* fueron secados en estufa a 60° C hasta peso constante, posteriormente fueron colocados en un molino de anillos hasta obtener un polvo homogéneo. Con los pellets de la dieta basal rata ratón (DB) se utilizó una procesadora con la cual también se obtuvo un polvo homogéneo. Se almacenaron en freezer debidamente sellado, hasta su utilización.

Tratamiento de los animales:

Se utilizaron ratas prepúberes de la cepa Wistar procedentes del Bioterio de la Universidad Nacional de San Luis. Fueron 28 ratas hembras de 25 días de edad y se distribuyeron al azar en cuatro lotes, los cuales tuvieron una dieta basal de alimento comercial rata-ratón en polvo (DB):

- Control 1 (C1): es el control negativo, DB sin *P. torquata*.
- Control 2 (C2): es el control positivo, DB con 0,005% de 17 β -estradiol (Sigma).
- Tratamiento 1 (T1): DB más 5% de *P. torquata*.
- Tratamiento 2 (T2): DB más 10% de *P. torquata*.

Diariamente se controló el peso corporal, se les suministró alimento y agua *ad libitum* y se mantuvo la luz controlada en el ambiente (12:12). A las 9 hs y a las 15 hs se revisaban los individuos para controlar la aparición de apertura vaginal (AV).

La AV en la totalidad de la población indicó la finalización del experimento. Todos los animales fueron sacrificados por punción cardíaca bajo anestesia. Se registró el peso del animal y el peso de los órganos reproductivos. Las variables medidas como indicadores de actividad estrogénica, en todos los grupos, fueron: tiempo de AV, el porcentaje de AV, la evaluación macroscópica de los órganos

reproductores (edematización y turgencia de los tejidos), evaluación microscópica de ovarios y los pesos frescos (PF) y secos (PS) de útero, oviductos y ovarios.

Análisis histológico

Inmediatamente después del sacrificio de los animales, los ovarios fueron extraídos, pesados y fijados en líquido de Bouin, posteriormente deshidratados en alcoholes de graduación creciente y finalmente incluidos en parafina. Se realizaron cortes histológicos de 4 μm de espesor. Se colorearon con hematoxilina-eosina. Se analizaron 3 ovarios por cada tratamiento. El estudio histológico se realizó en la cátedra de Histología de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis.

Análisis estadístico

Los valores obtenidos de los pesos fresco y seco de oviducto, ovario, útero y el peso de los animales (PA) se analizaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) de un factor (Di Rienzo et al., 2001, InfoStat). Las diferencias observadas en la AV entre los distintos grupos fueron analizadas mediante Kaplan-Meier (Wilkinson, 1997, SYSTAT) Esta prueba estima la probabilidad de supervivencia, o en otras palabras, las posibilidades de que un animal se mantenga en el experimento por más tiempo t (t es el tiempo en el cual los primeros animales se retiran del experimento). Por lo tanto, la probabilidad de supervivencia se calcula cada vez que un animal se retira del experimento. La probabilidad de supervivencia en el día 0 es 1 para todos los animales y es 0 el último día, cuando no hay animales en el experimento. Se consideró estadísticamente significativo, un valor de $p \leq 0.05$ (Mangione et al., 2000).

Experimento a campo con *L. griseus*

Se propuso determinar las concentraciones hormonales en *L. griseus* posteriormente al consumo de frutos de *P. torquata*. Para ello se diseñó un experimento en el cual durante cuatro meses, los zorros fueron alimentados con dietas sin fitoestrógenos. Posteriormente, se les ofreció, durante cuatro días frutos de *P. torquata* y agua *ad libitum*, al finalizar el experimento, se les extrajo sangre (Fig. 5.1). Las determinaciones no pudieron llevarse a cabo, debido a que la sangre estaba hemolizada.



Figura 5.1. a) Frutos de *P.torquata* como alimento ofrecido y agua *ad libitum*.
b) extracción de sangre en el lugar de trabajo.

RESULTADOS

Apertura Vaginal (AV)

En la observación de la AV se tuvo en cuenta que en esta especie la misma se produce a los 35 días de edad aproximadamente, indicando madurez fisiológica del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Odum et al., 2004; Kouki, 2005). Las observaciones de la AV se realizaron a partir de los 25 días de edad durante los 16 días que duró el experimento. Se pudo observar diferencia significativa entre los tratamientos ($\chi^2=23,11$, $gl=3$, $p<0,001$) (Fig. 5.2). Los resultados obtenidos para C2 son los esperados, en el día 31 de experimentación ya se observaba que el 85% de las ratas presentaban AV.

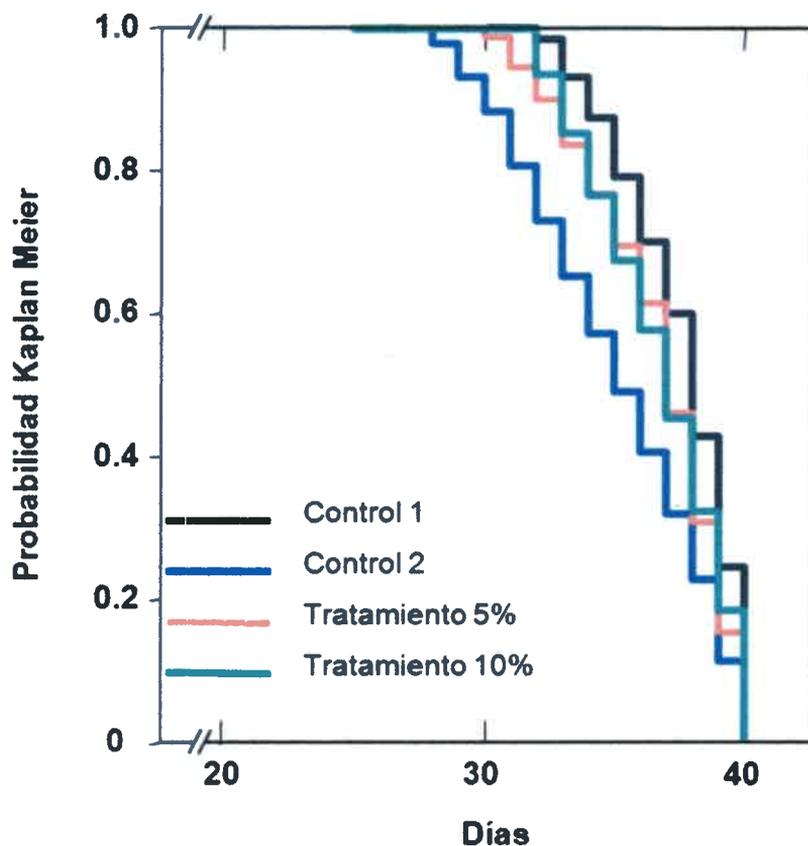


Figura 5.2. Análisis de probabilidad de Kaplan Meier entre la AV de las ratas de los diferentes lotes durante los días de experimentación.

Con respecto a los otros grupos, no se observa diferencia significativa entre C1, T1 y T2 ($\chi^2=3,75$, $gl=2$, $p=0,15$), mientras que para T1 y T2 se evidencia una tendencia en iniciar la pubertad más temprano.

Pesos de útero, oviductos y ovarios.

Con respecto a la relación entre los pesos frescos (PF) y pesos secos (PS) de los distintos órganos reproductores en los distintos grupos, no presentaron diferencias significativas (Fig. 5.3), excepto en el PS de ovarios ($F=3,5$, $gl=3$, $p=0,03$), siendo el C2 quien marca la diferencia significativa con respecto a los otros grupos

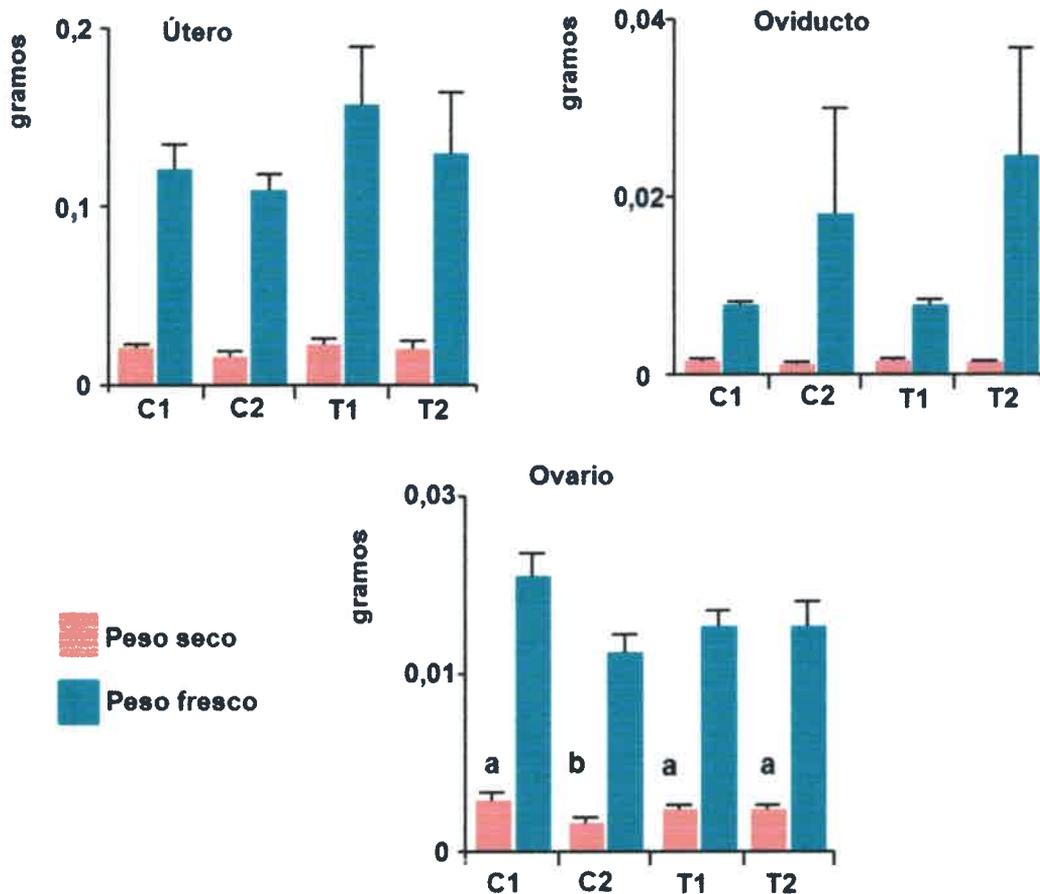


Figura 5.3. Peso fresco y seco de los órganos reproductores de rata Wistar. Las barras indican error estándar.

Análisis histológico

Los preparados histológicos fueron observados utilizando un microscopio binocular Olympus BX-40. Las imágenes fueron capturadas a través de una cámara Sony SSC-DC50A y procesadas con el software Image – Pro Plus 5.0.

Los cortes de ovario correspondientes a C1, muestran folículos maduros con ovocitos definidos, corona radiada y la zona pelúcida. Se observa la presencia de cuerpos lúteos y tejido intersticial (Fig 5.4).

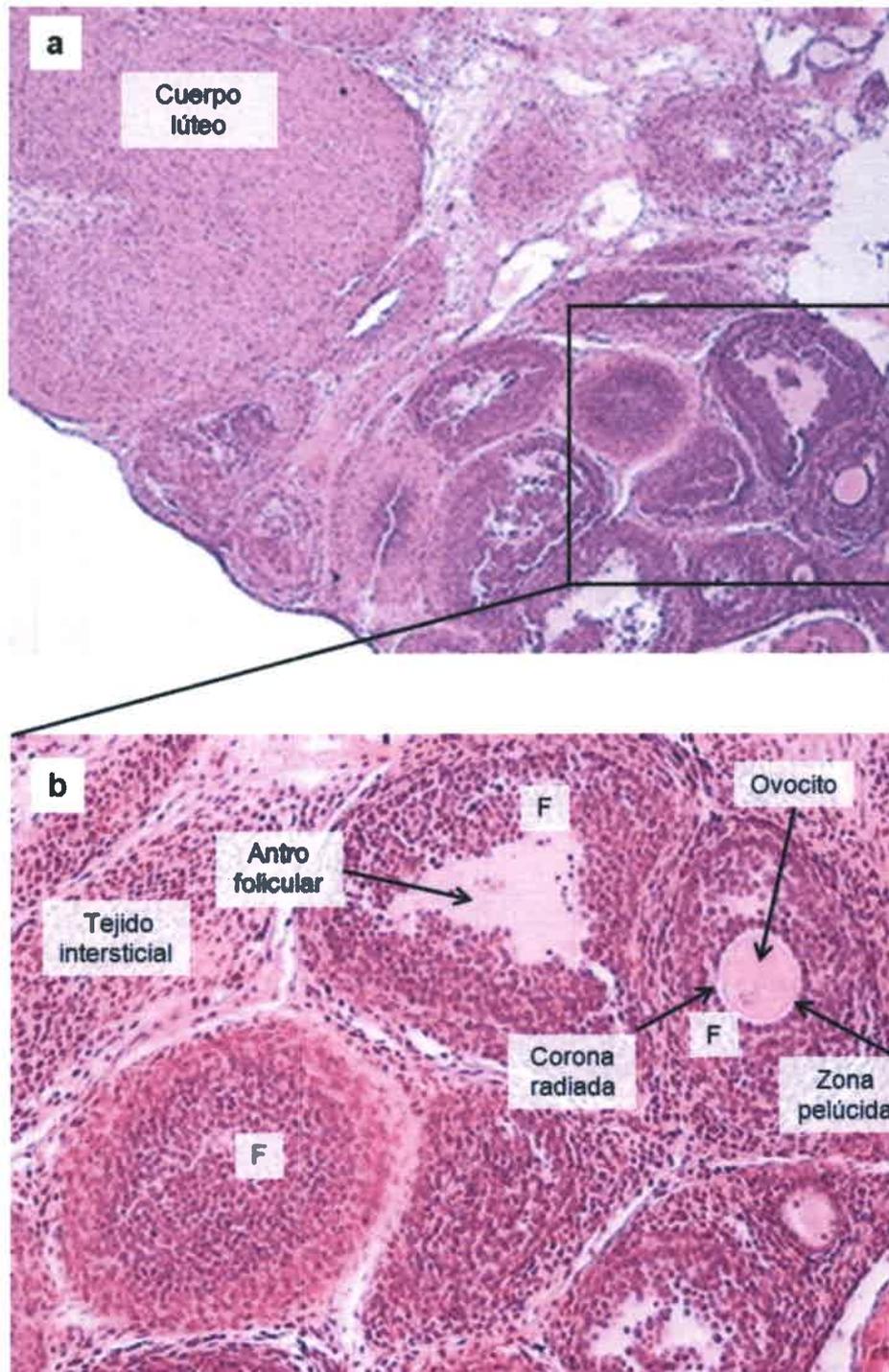


Figura 5.4. Ovario C1. **a-** Aumento x40. **b-** Aumento x100. Las letras F indican folículos en diferentes estadios.

La histología de los ovarios de ratas del lote T1 (Fig. 5.5), presentan una morfología y disposición histoarquitectural similar a los ovarios de las ratas del lote C1. Presenta escasos folículos en estadio temprano de desarrollo, principalmente folículos primordiales. El tejido intersticial es escaso y además se observa la presencia de algunos cuerpos lúteos de gran tamaño con escasa irrigación. Los cuerpos lúteos poseen los tipos celulares descritos como células tecoluteínicas y granuloluteínicas.

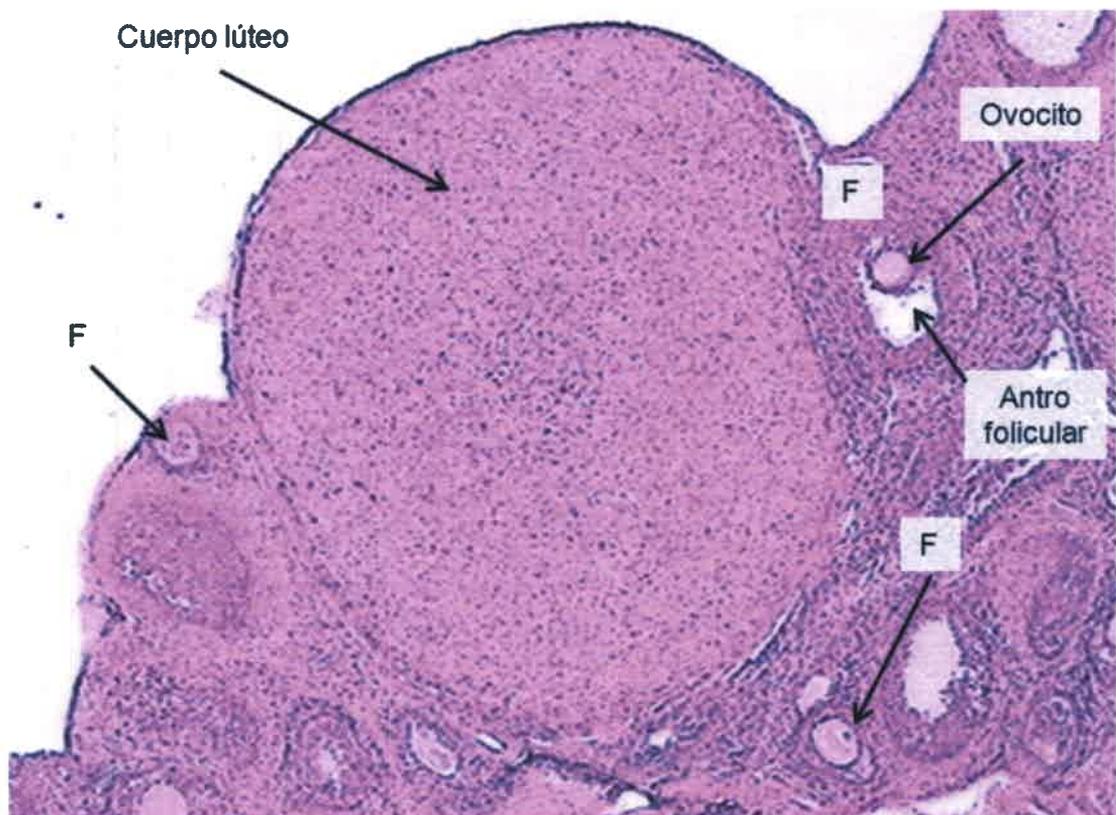


Figura 5.5. Ovario T1. Aumento x40. Las letras F indican folículos en diferentes estadios.

El análisis histológico de las ratas del lote T2 (Fig. 5.6), difiere significativamente del ovario de animales C1. Numerosos folículos se disponen en toda la extensión del órgano. Se observan folículos primarios tempranos y tardíos, folículos antrales en diversas etapas del desarrollo, alguno de ellos en la fase final (en la Figura 5.6.). Los folículos en desarrollo están constituidos por las estructuras clásicamente descritas, células tecales internas y externas, células granulosas y ovocitos recubiertos por la corona radiata. Entre la membrana del ovocito y las células de la corona se observa una zona clara que corresponde a la zona pelúcida. Numerosos folículos presentan células en degeneración. Asimismo poseen células con características apoptóticas, lo que sugiere que los folículos han comenzado el proceso atrésico lo cual impedirá la ovulación. No se observa la presencia de cuerpos lúteos. El tejido intersticial no difiere del C1.

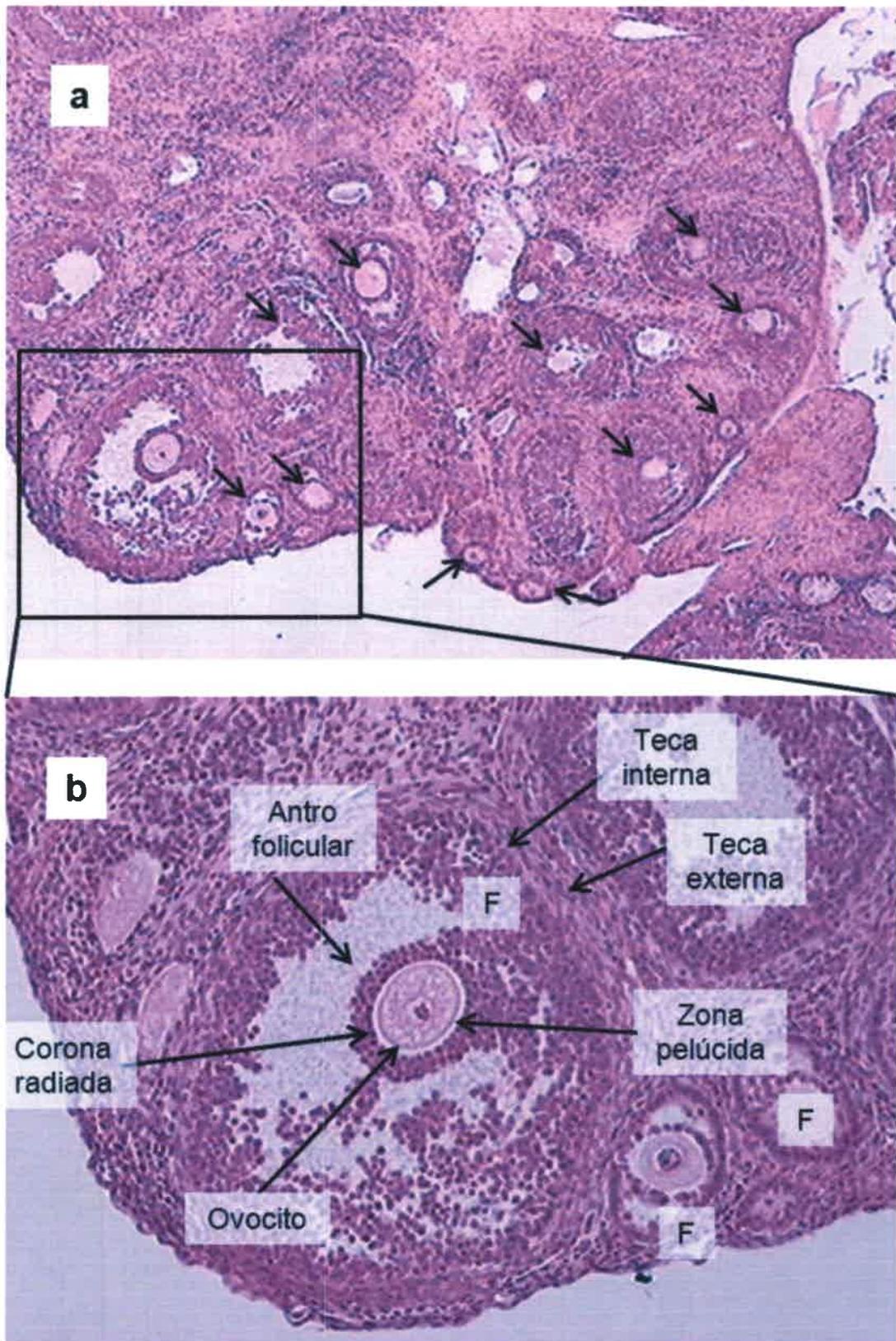


Figura 5.6. Ovario T2. a- Aumento x40. Las flechas indican folículos b- Aumento x100. Las letras F indican folículos en diferentes estadios.

Análisis morfológico

Se observó una considerable edematización y turgencia en los úteros de las ratas de los lotes C2, T1 y T2, siendo notable la diferencia con el C1. Los ovarios de C2 y T1 presentan cuerpos lúteos muy irrigados, los cuales se pueden observar a simple vista. Se utilizó una lupa estereoscópica para el análisis (Fig. 5.7).

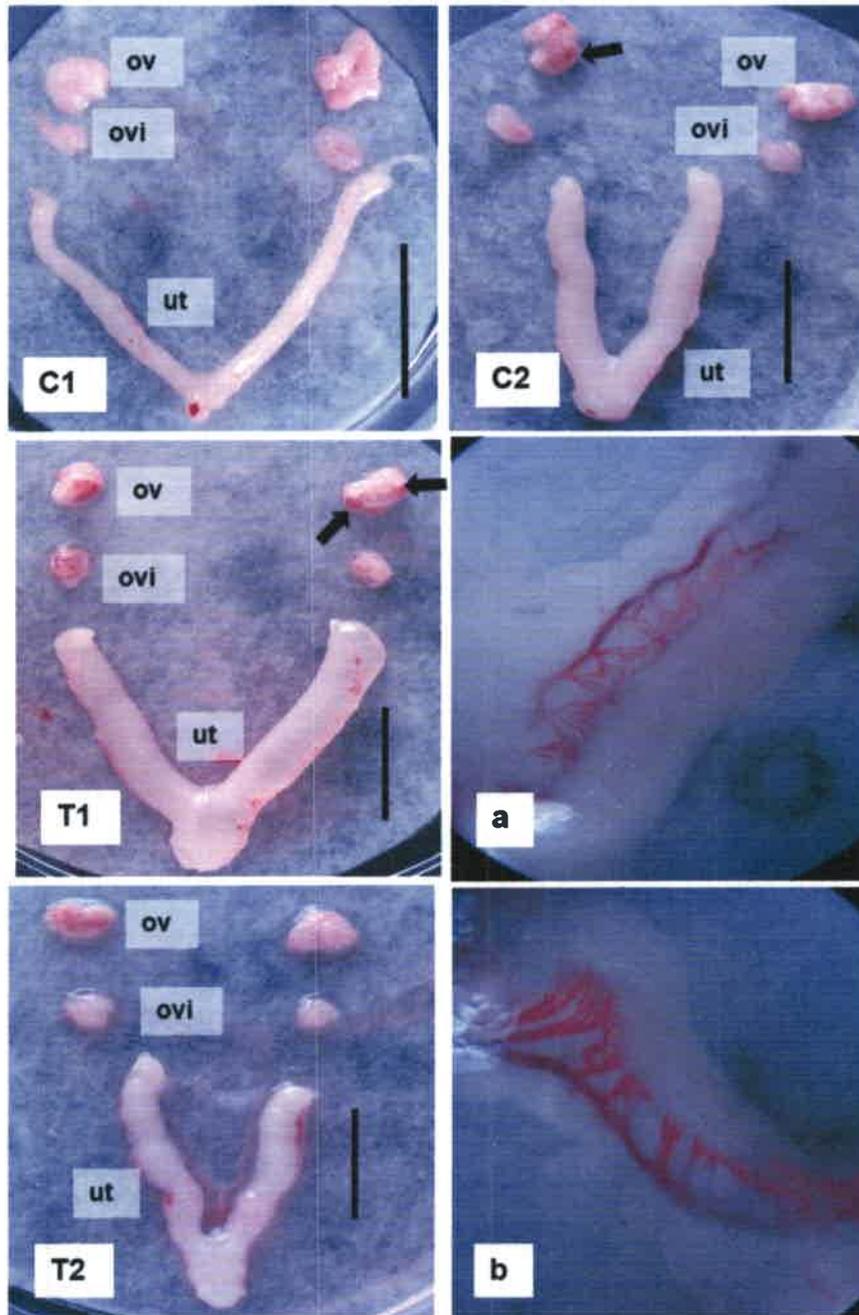


Figura 5.7. ov: ovario; ovi: oviducto; ut: útero. a) útero del lote T1 b) útero del lote T2. La línea negra equivale a 1 cm. Las flechas indican cuerpos lúteos.

DISCUSIÓN

Numerosos autores realizaron estudios en los cuales administraron una dieta rica en isoflavonas a ratas ovariectomizadas y observaron aumento en el PF y PS de útero (Santell et al., 1997; Boettger-Tong et al., 1998; Degen et al., 2002; Ryökkönen et al., 2005; Eason et al., 2005). En el trabajo presentado por Casanova et al. (1999), mencionan que ratas no ovariectomizadas, presentan una respuesta similar a los trabajos mencionados anteriormente, ya que observaron diferencias en el peso de los úteros de las ratas tratadas con ginesteína vs las ratas con una dieta libre de fitoestrógenos. El resultado obtenido en esta tesis, difiere con los trabajos citados, ya que la única variación se observó en el PS de los ovarios de las ratas C2, en las cuales la dieta ofrecida contenía 17 β -estradiol. Esta diferencia podría deberse a que se le ofreció el polvo del fruto de *P. torquata* junto con otros componentes del alimento rata-ratón, por lo que se podría esperar que otro efecto, ya que la DB contiene soja y podría tener efectos antagonistas. La dieta basal rata-ratón comercial soja como fuente proteica, que al contener isoflavonas como ginesteína y daidzeína, lleva a suponer una sensibilización del mecanismo neuroendócrino desde la gestación, enmascarando variaciones en mecanismos fisiológicos del sistema reproductor producidos por otras dietas en estudio (Degen et al., 2002).

Con respecto al tiempo de AV, la diferencia observada fue la esperada ya que fueron las ratas del C2 (con inclusión de 17 β -estradiol) quienes la marcaron con respecto a los otros tres lotes. Los tiempos de AV de los T1, T2 y C1, fueron similares. Analizando estos resultados con los del trabajo expuesto por Carrasco et al., (2010), se observa una semejanza entre los tiempos de AV en nuestro estudio en los lotes T1, T2 y C1 con respecto a las AV de las ratas que fueron expuestas a la administración de extracto metanólico de *P. torquata* y alimento comercial. Teniendo en cuenta estas semejanzas, coincidimos en lo expresado por Carrasco et al., (2010), quienes sugieren la posible actividad estrogenomímica de los frutos de *P. torquata*. El tiempo de AV observado para las ratas en lotes con estradiol fue el mismo en ambos trabajos. Otros estudios mencionan la AV temprana en animales en dietas con alto contenido en fitoestrógenos (Casanova et al., 1999; Gallo et al., 1999; Odum et al., 2004; Kouki et al., 2005; Carrasco et al., 2010).

Las variaciones morfológicas en ovario, oviducto y útero entre los lotes, fueron notables. Incluso se observó una irrigación del útero en los T1 y T2, más evidente que en los controles.

Con respecto a los análisis histológicos, en los ovarios de las ratas del grupo T2, se observa la acción de fitoestrógenos, debido a la gran cantidad de folículos en diversos estadios con respecto a C1, la ausencia de cuerpos lúteos y la presencia de células con características apoptóticas. Estos resultados coinciden con lo presentado por Carrasco et al., (2010), quienes mencionan modificaciones en el análisis histológico de los ovarios de las ratas que fueron inyectadas con el extracto metanólico de los frutos de *P. torquata*.

Son escasos los trabajos realizados sobre el metabolismo de los fitoestrógenos. Yamada et al., (1999), propone que los fitoestrógenos sufren transformaciones en su estructura al ser incorporados en la dieta. Estas modificaciones pueden ser hidroxilaciones, desmetilaciones e incluso hidrólisis, por lo que podrían formarse más de diez intermediarios. Esto sucedería cuando intervienen las bacterias del tracto digestivo, en los procesos de absorción y reabsorción en el hígado (Yamada et al., 1999; Pérez-Rivero et al., 2007). Por lo que el efecto de los fitoestrógenos consumidos, podría tener cambios estructurales y presentar una respuesta diferente en el animal que lo consume.

Con lo analizado hasta el momento, no se descartaría la posibilidad que la ingesta de material vegetal en mamíferos sea un regulador de la reproducción, quedando por delante numerosos estudios entre los cuales se analice la cantidad consumida y asimilada por mamíferos. No se pretende inferir de los resultados de este estudio, que la ingesta de los frutos de *P. torquata* afecte el estatus reproductivo de *L. griseus*. Si proponemos, sin embargo poner de manifiesto los potenciales efectos de la ingesta de *P. torquata* sobre la reproducción de *L. griseus*.

CONCLUSIONES GENERALES

Tradicionalmente se ha considerado que la conducta de selección del alimento está fundamentalmente asociada a su abundancia y disponibilidad. Es menos obvio, sin embargo, que las capacidades de digestión ejerzan restricciones importantes sobre la conducta de selección del alimento. Generalmente, la selección del alimento se relaciona con la utilización, manejo y digestión de los ítemes tróficos y de los nutrientes contenidos en el alimento (Mangione y Bozinovic, 2003). Se han realizado numerosos estudios tradicionales y modernos, con herramientas simples en algunos casos y más complejas en otros, aportando al conocimiento de las diversas formas en que los vertebrados optimizan su balance nutricional, y han dado lugar a un sólido cuerpo de conocimientos y por consecuencia a un gran número de hipótesis interesantes para poner a prueba (Bozinovic, 2003). Esta tesis surge a partir de los interrogantes acerca de la ecología nutricional de cánidos, en especial *Lycalopex griseus*, el cual habita ambientes semiáridos. Las hipótesis propuestas en esta tesis y los resultados obtenidos permitieron avanzar en el conocimiento básico.

Con el objeto de delinear las conclusiones principales de esta tesis se mencionan los avances realizados en cada caso.

I. En el capítulo II, se determinó la abundancia de la biomasa y el contenido nutricional (proteína, agua, lípidos) de mamíferos, insectos, gramíneas, *P. torquata* y cactus en el ambiente, en ambas estaciones. También se analizó la dieta de *L. griseus*. Con los resultados obtenidos se podría concluir que este cánido consume una serie de ítemes, que desde el punto de vista trófico, sugieren una estrategia alimentaria, la cual lo complementa nutricionalmente, es decir, consume los ítemes de mayor valor nutricional independientemente de su abundancia

II. Los experimentos realizados con diferentes contenidos en FDN, mostraron que el balance de masa fue negativo para las dietas con alto contenido de fibra, lo que indica una disminución en el ingreso total de nutrientes y/o energía al organismo. que los altos contenidos en fibra la digestibilidad del alimento. La digestibilidad del alimento y del nitrógeno no estaría modificada por los altos contenidos en FDN, es decir que, *L. griseus* es capaz de digerir nitrógeno. Esto podría estar asociado a una regulación a nivel intestinal en la absorción de nutrientes. El tiempo de retención, difirió entre las dietas artificiales, siendo menor en los ensayos con mayor contenido en NDF. Se

concluye que, *L. griseus* es capaz de digerir nitrógeno aun cuando el consumo de FDN es alto y el tiempo de retención es menor.

III. En la dieta de *L. griseus*, se encontraron restos de cactus, lo que dio lugar a plantear que su consumo se relacionaba con la utilización de estas suculentas como fuente alternativa de agua preformada. Con los resultados obtenidos, se podría concluir que los cactus no son utilizados como fuente de agua, ya que durante nueve días de experimentación, no hubo consumo de estas suculentas. En estado silvestre, el agua preformada utilizada por *L. griseus*, podría tener un origen animal, siendo los pequeños mamíferos y los insectos, una óptima opción para ello.

IV. En los experimentos exploratorios realizados con ratas hembras Wistar, en relación al consumo de frutos de *Prosopis torquata* y su acción fitoestrogénica, se obtuvieron resultados con los que se puede concluir que el consumo de estos frutos provoca modificaciones morfológicas en ovario, oviducto y útero, como así también a nivel histológico, en el cual se observó gran cantidad de folículos, ausencia de cuerpos lúteos y la presencia de células con características apoptóticas.

PERSPECTIVAS

Este trabajo permite replantear preguntas, las cuales serían interesantes puntos de partida para futuros estudios:

- Los experimentos que se llevaron a cabo con dietas que contenían diferentes cantidades de FDN, mantenían el contenido en proteína, sería interesante conocer la digestibilidad de nitrógeno, variando el contenido de este en las dietas y con altos contenidos en FDN. De este modo ampliar el conocimiento y comprender acerca de los mecanismos de estos cánidos en relación a su capacidad para asimilar nitrógeno.
- En ambientes semiáridos, el agua es un recurso esencial, conocer el balance hídrico de *L. griseus*, la producción de agua metabólica y la obtención de agua preformada, sería un gran aporte para el conocimiento de estos mecanismos en cánidos que habitan ambientes áridos. Los estudios podrían realizarse utilizando agua marcada, con animales en semicautiverio.
- El consumo de frutos con fitoestrógenos, como son los del grupo de *Prosopis* sp, podrían ser un regulador de la reproducción. Surgen los interrogantes de cuanto es asimilado por un cánido y si podría alterar su ciclo reproductivo. Los experimentos podrían llevarse a cabo ofreciendo dietas con frutos y controlando niveles hormonales mediante análisis de sangre.



BIBLIOGRAFÍA

- AAFCO, Association of American Feed Control Officials, 2003. Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publication of the Association of American Feed Control Officials Incorporated, AAFCO, Oxford, IN, USA.
- Afik D and B Pinshow. 1993. Temperature regulation and water economy in desert wolves. *Journal of Arid Environments*. Vol 24: 197-209.
- Ahlstrøm Ø, E Fuglei and LT Mydland. 2003. Comparative nutrient digestibility of arctic foxes (*Alopex lagopus*) on Svalbard and farm-raised blue foxes (*Alopex lagopus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 134(1):63-8.
- Alvarez-Castañeda ST and P González-Quintero. 2005. Winter–spring food habits of an island population of Coyote *Canis Latrans* in Baja California, México. *Journal of Arid Environments* 60: 397–404.
- Andrade-Montemayor HM, AV Cordova-Torres, T García-Gasca and JR Kawas. 2011. Alternative foods for small ruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.). *Small Ruminant Research* 98: 83–92.
- Arruda Bueno A and J Motta-Junior. 2004. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), in southeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 5-14.
- Baker ME. 1995. Endocrine Activity of Plant-Derived Compounds: An Evolutionary Perspective. *Evolution of Phytoendocrine Activity*. Society for Experimental Biology and Medicine. P.S.E.B.M, 208: 131-138.
- Baker ME. 1997. Steroid receptor phylogeny and vertebrate origins. *Molecular and Cellular Endocrinology* 135: 101-107.
- Ball CL and R Golightly Jr. 1992. Energy and nutrient assimilation by grey foxes on diets of mice and Himalaya berries. *Journal of Mammalogy* 73 (4): 840-846.

Bibliografía

- Birochio D. 2008 "Ecología trófica de *Pseudalopex gymnocercus* en la región pampeana: Un acercamiento inferencial al uso de los recursos" Tesis Doctoral en Biología. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.
- Boettger-Tong H, L Murthy, C Chiappeta, J Kirkland, B Goodwin, H Adlercreutz, G Stancel and S Mäkelä. 1998. A case of a laboratory animal feed with estrogenic activity and its impact on in vivo responses to exogenously administered estrogens. *Environmental health perspective* 106(7): 369-373.
- Bozinovic F. 1995. Nutritional energetics and digestive responses of an herbivorous rodent (*Octodon degus*) to diferentes levels of dietary fiber. *Journal of Mammalogy* 76: 627-637.
- Bozinovic F. 2003. Fisiología ecológica y evolutiva. Teoría y casos de estudio en animales. Ediciones Universidad Católica de Chile, Chile.
- Bradbury RB and White DE. 1954. Oestrogens and related substances in plants. *Vitam Horm* 12: 207-233.
- Bueno AA and J Motta-Junior. 2006. Food habits of two syntopic canids, the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*), in southeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 5-14.
- Cabrera AL y A Willink. 1980. Biogeografía de América Latina. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de desarrollo Científico y tecnológico.
- Carey C. 1996. Avian energetics and nutritional ecology. University of Colorado. Chapman and hall. ITP
- Carrasco M, AP Salinas, AM Mangione y ER Gil. 2010. Efecto Fitoestrogénico del Extracto Metanólico de Frutos de *Prosopis torquata* (Cav. ex Lag.) en Ratas Wistar Hembras Púberes. *Latin American Journal of Pharmacy* 29 (3): 340-5
- Casanova M, L You, K Gaido, S Archibeque-Engle, D Janszen and H Heck. 1999. Developmental effect of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of ginestein and diadzein whit rat estrogen receptors α and β in vitro. *Toxicological science* 51: 236-244.

Bibliografía

- Castillo D, D Birochio, M Lucherini and E Casanave. 2011. Diet of adult and cubs of *Lycalopex gymnocercus* in Pampas grasslands: a validation of the Optimal Foraging Theory? *Annales Zoologici Fennici* 48:51-56.
- Chamley WA, IJ Clarke and AR Moran. 1985. Seasonal changes in LH secretion in normal ewes and ewes which grazed oestrogenic clover. *Australian Journal of Biological Sciences* 38: 109-13.
- Chehébar C y S Martín. 1989. Guía para el reconocimiento microscópico de los pelos de los mamíferos de la Patagonia. *Doñana Acta Vertebrata*. 16(2):247-291.
- Cooper RJ and RC Whitmore. 1990. Arthropod sampling methods in ornithology. *Studies in Avian Biology* 13: 29-37.
- Costa G. 1995. Behavioural adaptations of desert animals. *Università di Catania. Dipartimento di Biologia Animale. Ed. Springer*
- De Naeyer A, V Pocock, S Milligan and D De Keukeleire. 2005. Estrogenic activity of a polyphenolic extract of the leaves of *Epimedium brevicornum*. *Fitoterapia* 76: 35-40.
- Degen, AA. 1997. *Ecophysiology of Small Desert Mammals*. Editor. J. I. Cloudsley-Thompson. Springer. New Yor. 296 págs.
- Degen GH, P Janning, P Diel and HM Bolt. 2002. Estrogenic isoflavones in rodent diets. *Toxicology Letters* 128: 145–157
- Dell'arte, GL and G Leonardi. 2005. Effects of habitat composition on the use of resources by the red fox in a semi arid environment of North Africa. *Acta Oecologica* 28: 77–85.
- Dell'Arte GL, T Laaksonen, K Norrdahl and E Korpimäki. 2007. Variation in the diet composition of a generalist predator, the red fox, in relation to season and density of main prey. *Acta Oecologica* 31:276-281.
- Dell'Arte, G and G Leonardi. 2009. The feeding choice of the Red Fox (*Vulpes vulpes*) in a semi-arid fragmented landscape of North Africa in relation to water and energy contents of prey. *African Journal of Ecology* 47: 729–736

Bibliografía

- Dierenfeld ES, HF Hintz, JB Robertson, PJ Van Soest and OT Oftedal. 1982. Utilization of bamboo by the giant panda. *Journal of Nutrition* 112: 636-1169.
- Dierenfeld ES and WS Graffam. 1996. Manual de nutrición y dietas para animales silvestres en cautiverio (ejemplos para animales de América Latina). Wildlife Conservation Society. Bronx, NY.
- Di Rienzo J, CW Robledo, F Casanoves, MG Balzarini, LA González, AW Guzmán, EM Tablada. 2001. InfoStat. Estadística y biometría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Versión beta. infostat@agro.uncor.edu.
- Donadio E, S Di Martino, M Aubonea and AJ Novaro. 2004. Feeding ecology of the Andean hog-nosed skunk (*Conepatus chinga*) in areas under different land use in north-western Patagonia. *Journal of Arid Environments* 56: 709–718.
- Eason R, R Till, M Velarde, Y Geng, L Chatman, Jr, L Gu, T Badger, F Simmen and R Simmen. 2005. Uterine phenotype of young adult rats exposed to dietary soy or ginestein during development. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 16 (10): 625-632.
- Fahey Jr GC, NR Merchen, JE Corbin, AK Hamilton KA Serb, SM Lewis and DA Hirakawa. 1990. Dietary fiber for dogs: I. Effects of graded levels of dietary beet pulp on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. *Journal of Animal Science* 68: 4221-4228
- Fahey Jr GC, NR Merchen, JE Corbin, AK Hamilton, LL Bauer, EC Titgemeyer and D Hirakawa. 1992. Dietary fiber for dogs: III. Effects of beet pulp and oat fiber additions to dog diets on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy, and digesta mean retention time. *Journal of Animal Science* 70: 1169-1174.
- Faulkner, W. L. and D. Anderson. 1991. The effects of fiber supplementation on diet digestibility by silver foxes. *Canadian Journal of animal science* 71: 943-947.
- Felker P, N Gradosw, G Cruzw and D Prokopiukz. 2003. Economic assessment of production of flour from *Prosopis alba* and *P. pallida* pods for human food applications. *Journal of Arid Environments*. 53: 517–528.

Bibliografía

- Fletcher NB, M Rodden and S Taylor. (Eds). 1995. Manual de manejo para el Lobo de Crin *Crysocyon brachyurus*. Ed. En castellano S Minini. Universidad de Buenos Aires.
- Fortes, CM, AC Carciofi, NK Sakomura, IM Kawauchi and RS Vasconcellos. 2010. Digestibility and metabolizable energy of some carbohydrate sources for dogs. *Animal Feed Science and Technology*. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.01.009.
- Fortín JK, SD Farley, KD Rode and CT Robbins. 2007. Dietary and spatial overlap between sympatric ursids relative to salmon use. *Ursus* 18(1): 19–29.
- Fournier F and D Thomas. 1997. Nitrogen and requirements of the North American Porcupine (*Erethizon dorsatum*). *Physiological Zoology* 70 (6): 615-620.
- Gallo D, F Cantelmo, M Distefano, C Ferlini, GF Zannoni, A Riva, P Morazzoni, E Bombardelli, S Mancuso and G Scambia. 1999. Reproductive effects of dietary soy in female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology* 37(5): 493-502.
- Geffen E, AA Degen, M Kam, R Hefner, KA Nagy. 1992. Daily energy expenditure and water flux of free-living Blanford's foxes (*Vulpes cana*): a small desert carnivore. *Journal of Animal Ecology*, 61:611-617.
- Geffen E and I Girard. 2003. Behavioral and physiological adaptations of foxes to hot arid environments: comparing Saharo-Arabian and North American species. Pp. 223-229 in *The Swift Fox: Ecology and Conservation of Swift Foxes in a Changing World*, Sovada, M. and Carbyn, L. N. (eds.). Canadian Circumpolar Institute, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.
- Golightly RT and RD Ohmart. 1984. Water economy of two desert canids: coyote and kit fox. *Journal of Mammalogy* 65: 51–58.
- González del Solar R, S Puig, F Videla and V Roig. 1997. Diet composition of the South American grey fox, *Pseudalopex griseus* Gray, 1837 in Northeastern Mendoza, Argentina. *Mammalia* 61: 617-621.
- González del Solar R y J Rau. 2004. Chilla. *Pseudalopex griseus*. En C. Sillero-Zubiri, M. Hoffman y D. Macdonald (eds.) *Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs*. Gland, Suiza, IUCN/SSC Canid Specialist Group. Pp. 56-63.

Bibliografía

- Guerrero S, M Badii, S Zalapa y A Flores. 2002. Dieta y nicho de alimentación del coyote, zorra gris, mapache y yaguarundí en un bosque natural caducifolio de la costa sur del estado de Jalisco, México. *Acta Zoológica Mexicana* (Nueva serie). N° 086. Inst. de Ecología A. C. Jalapa México. 119-137.
- Guevara-Figueroa T, H Jiménez-Islas, M Reyes-Escogido, AG Mortensen, B Laursen, LW Lin, A De León-Rodríguez, S Fomsgaard and AP Barba de la Rosa. 2010. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp). *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 525–532.
- Guzmán SH. 2010. Importancia de la fibra en la alimentación de los bovinos. Facultad de Medicina veterinaria y zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis Médico Veterinario.
- Haene E y G Gil. 1991. El proyectado Parque Nacional Sierra de las Quijadas. (Provincia de San Luis, República Argentina). Subsecretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Administración de Parques Nacionales.
- Hill R, G Wyse and M Anderson. 2006. *Fisiología Animal*. Ed. Médica Panamericana S.A. Madrid España.
- Home C and YV Jhala. 2009. Food habits of the Indian fox (*Vulpes bengalensis*) in Kutch, Gujarat, India. *Mammalian Biology* 74: 403–411.
- Jaksic FM, RP Schlatter and JL Yañez. 1980. Feeding ecology of central chilean foxes, *Dusicyon culpaeus* y *Dusicyon griseus*. *Journal of Mammalogy*. 61:254-260.
- Johnson W and WL Franklin. 1994. Conservation implications of South American grey fox (*Dusicyon griseus*) socioecology in the Patagonia of southern Chile. *Vida Silvestre Neotropical* 3(1): 16-23.
- Karasov W. 1989. Nutritional bottleneck in an herbivore, the Desert Woodrat (*Neotoma lepida*). *Physiological Zoology* 62(6): 1351-1382.
- Karasov W and C Martínez del Río. 2007. *Physiological ecology. How animals process energy, nutrients and toxins*. Princeton University press. Princeton, NJ, USA

Bibliografía

- Klare U, JF Kamler and D Macdonald. 2011. A comparison and critique of different scat-analysis methods for determining carnivore diet. *Mammal Review* 41(4): 294–312.
- Kouki T, M Okamoto, S Wada, M Kishitake and K Yamanouchi. 2005. Suppressive effect of neonatal treatment with a phytoestrogen, coumestrol, on lordosis and estrous cycle in female rats. *Brain Research Bulletin* 64(5): 449-54.
- Labov J. B. 1977. Phytoestrogens and mammalian reproduction. *Comparative Biochemistry and Physiology* 57A (1): 3-9
- Lee, SH, BH Jung, SY Kim and BC Chung. 2004. Determination of phytoestrogens in traditional medicinal herbs using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15: 452–460
- Li Y. 1986. Morphology of the giant panda: systematic anatomy and organ histology. Science Press, Beijing, China
- Luengos Vidal E. 2003. Estudio comparado de metodologías y estimación de las poblaciones de zorro pampeano *Pseudalopex gymnocercus*. Tesis Magister en Biología. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca. Argentina.
- Macfadem Juarez K and Marinho-Filho J. 2002. Diet, habitat use, and home ranges of sympatric canids in Central Brazil. *Journal of Mammalogy* 83 (4): 925-933.
- Maero IS, D Rivarola y G Tognelli. 2007. Cartografía morfodinámica para el Parque Nacional Sierra de las Quijadas. San Luis. Argentina. *Gestión Ambiental* 14: 57-77
- Mangione AM y F Bozinovic. 2003. Ecología nutricional y estrategias de digestión: Compromisos entre la obtención de energía y eliminación de toxinas. In: *Fisiología Ecológica y Evolutiva*. F Bozinovic (Ed). Ed Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile, pp. 125-150.
- Mangione AM, MD Dearing and WH Karasov. 2000. Interpopulation differences in tolerance to creosote bush resin in desert woodrats (*Neotoma lepida*). *Ecology* 81(8): 2067–2076

Bibliografía

- Martínez DR, J Rau y F Jaksic. 1993. Respuesta numérica y selectividad dietaria de zorros (*Pseudalopex* spp) ante una reducción de sus presas en el norte de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 66 (1): 195-202.
- Maynard L, JK Loosli, H Hintz and R Warner. 1979. *Animal Nutrition*. Seventh edition. McGraw-Hill Publications in the agricultural Sciences.
- Medel R y F Jaksic. 1988. Ecología de los cánidos sudamericanos: una revisión. *Revista Chilena de Historia Natural* 61: 67-79.
- Motta-Junior JC, SA Talamoni, JA Lombardi and K Simokomaki. 1996. Diet of maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in central Brazil. *Journal of Zoology (London)* 240: 277-284.
- Muñoz-Concha D, H Vogel y I Razmili. 2004. Variación de compuestos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp (Magnoliophyta: Winteraceae) en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 77 (1): 43-50.
- Murdoch, JD, S Buyandelger and BL Cypher. 2009. Patterns of seed occurrence in corsac and red fox diets in Mongolia. *Journal of Arid Environments* 73: 381-384.
- Nagy K. 2004. Water economy of free-living desert animals. *International congress series* 1275. 291-297
- Noll-Banholzer U. 1979. Water balance and kidney structure in the fennec. *Comparative Biochemistry and Physiology* 62 (A): 593-597.
- Novaro AJ, RS Walker and M Suárez. 1995. Dry season food habits of the grey fox (*Urocyon cinereoargenteus fraterculus*). *Mammalia* 59 (1): 19-24.
- Novaro AJ, MC Funes, C Rambeaud y O Monsalvo. 2000. Calibración del índice de estaciones odoríferas para estimar tendencias poblacionales del zorro colorado (*Pseudalopex culpaeus*) en Patagonia. *Mastozoología Neotropical*: 7(2): 81-88
- National Research Council NRC. 1982. *Nutrient requirements of mink and foxes*. National Research Council. National Academy Press, Washington, DC.

Bibliografía

- Nuñez, MB y L Bozzolo. 2006. Descripción de la dieta del zorro gris, *Pseudalopex griseus* (Canidae) (Gray, 1869), en el Parque Nacional Sierra de las Quijadas, San Luis, Argentina. *Gayana* 70(2): 163-167.
- Nuñez MB and AM Mangione. 2008. Determining micro- and mesofaunal composition through the analysis of South American grey fox's feces in two different semiarid habitats. *Ecología Austral* 18: 205-212.
- Odum J, H Tinwell, G Tobin and J Ashby. 2004. Cumulative dietary energy intake determines the onset of puberty in female rats. *Environmental health perspective* 112 (15): 1472-1480.
- Oystein A, E Fuglei and L Torunn Mydland. 2003. Comparative nutrient digestibility of arctic foxes (*Alopex lagopus*) on Svalbard and farm-raised blue foxes (*Alopex lagopus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 134: 63-68.
- Oseni SO, BA Ajayi, SO Komolafe, O Siyanbola, M Ishola and G Madamidola. 2008. Smallholder rabbit production in Southwestern Nigeria; current status, emerging issues and ways forward. In: Proc. 9th World Rabbit Congress. June, Verona, Italy, 1597-1602.
- Palacios R, RS Walker and AJ Novaro. 2012. Differences in diet and trophic interactions of Patagonian carnivores between areas with mostly native or exotic prey. *Mammalian Biology* 77: 183–189
- Parera AF. 1996. Estimación de la dieta de verano del zorro de Monte *Cerdocyon thous* (Mammalia: Carnivora) en la laguna Iberá Provincia de Corrientes, Argentina. Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" e Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales. Nueva Serie 136:1-5.
- Paralikiidis NP, NK Papageorgiou, VJ Kotsiotis and AC Tsiompanoudis. 2010. The dietary habits of the Brown bear (*Ursus arctos*) in western Greece. *Mammalian Biology*. 75 (1): 29-35
- Peña Zubiarte CA, DL Anderson, MA Demmi, JL Saenz and A D'Hiriart. 1998. Carta de suelos y vegetación de la Provincia de San Luis. Estación experimental agropecuaria. San Luis

Bibliografía

- Pérez-Rivero J, A Aguilar-Setién, J Martínez-Maya, M Pérez-Martínez y H Serrano. 2007. Los fitoestrógenos y el efecto de su consumo en diferentes órganos y sistemas de animales domésticos. Revisión. Agricultura Técnica. Chile. 67(3): 325-331
- Perovic P. 1998. La comunidad de carnívoros en la reserva de Biosfera Laguna de Pozuelos. Cap. 13. Bases para la conservación y manejo de la Puna y cordillera frontal de Argentina. El rol de las reservas de biosfera. Ed. JL Cajal, J García Fernández y R. Tecch. Fundación para la conservación de las especies y del medio ambiente.
- Pisani JM, RA Distel and Nilda G. Didone. 2001. Goat preference for *Prosopis caldenia* and *Prosopis flexuosa*. Journal of Arid Environments 47: 173–179.
- Price SA, SB Hopkins, KK Smith and VL Roth. 2012. Tempo of trophic evolution and its impact on mammalian diversification. PNAS 109 (18): 7008-7012.
- Rau JR, DR Martínez, JR Low and MS Tilleria. 1995. Depredación por zorros chillas (*Pseudalopex griseus*) sobre micromamíferos cursoriales escansoriales y arborícolas en un área silvestre protegida del sur de Chile. Revista Chilena de Historia Natural. 68: 333-340.
- Raubenheimer D, SJ Simpson and D Mayntz. 2009. Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. Functional Ecology 23: 4–16.
- Ríos JM. 2011. Ecología nutricional de aves granívoras del desierto del monte central. Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza.
- Robbins C. 1983. Wildlife feeding and nutrition. Academic Press, San Diego.
- Rocha VJ, NR dos Reis y ML Sekiama. 2004. Dieta e dispersão de sementes por *Cerdocyon thous* (Linnaeus) (Carnívora, Canidae), em um fragmento florestal no Paraná, Brasil. Revista Brasileira de Zoologia 21 (4): 871–876.
- Rocha VJ, Aguiar LM, Silva-Pereira JE, Moro-Rios R, Passos F. 2008. Feeding habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae), in a mosaic area with native and exotic vegetation in Southern Brazil. Revista Brasileira de Zoologia 25 (4): 594-600

Bibliografía

- Rode, KD and C Robbins. 2000. Why bear consume mixed diets during fruit abundance. *Canadian Journal of Zoology*. 78: 1640-1645.
- Rode KD, CT Robbins and LA Shipley. 2001. Constraints on herbivory by grizzly bears. *Oecologia* 128: 62–71.
- Ryökkönen A, P Nieminen, A Mustonen, T Pyykönen, J Asikainen, S Hänninen, J Mononen and J Kukkonen. 2005. Phytoestrogens alter the reproductive organ development in the mink (*Mustela vison*). *Toxicology and Applied pharmacology* 202: 132-139.
- Sánchez Trocino M. 2009. Manual de actualización del manejo nutricional y producción de bambú para el panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) y panda rojo (*Ailurus fulgens*) en el zoológico de Cahpultepec, Ciudad de México. Programa de Becas del Centro de Estudios China-México, UNAM y el ICyTGDF
- Santell RC, YC Chang, MG Nair and WG Helferich. 1997. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats. *Journal of Nutrition* 127(2): 263-9.
- Santos EF, Setz EZF and Gobbi N. 2003. Diet of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and its role in seed dispersal on a cattle ranch in Brazil. *Journal of Zoology (London)* 260: 203-208.
- Sensu T, A Ohya, K Ide, J Mikogai, M Morita, T Nakao, K Imazu, L Jingcao, L Xuanzhen, L Wenqi and N Lili. 2007. Studies on the digestion in the Giant Panda, *Ailuropoda melanoleuca*, fed feedstuffs including bamboo. *Mammal Study* 32 (4): 139-149.
- Silva SI, F Jaksic and F Bozinovic. 2004. Interplay between metabolic rate and diet quality in the South American fox, *Pseudalopex culpeus*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A* 137: 33-38.
- Silva, SI. 2005. Posiciones tróficas de pequeños mamíferos en Chile: una revisión. *Revista Chilena de Historia Natural*. 78: 589-599.
- Silva SI, F Bozinovic and F Jaksic (a). 2005. Frugivory and seed dispersal by foxes in to mammalian prey abundance in a semiarid thornscrub. *Austral Ecology* 30:739-746.

- Silva SI, F Jaksic and F Bozinovic. 2005. Nutricional ecology and digestive response to dietary shift en the large South American fox, *Pseudalopex culpeus*. Revista Chilena de Historia Natural 78: 239-246.
- Sims J, J Parsons, H Bissell, R Sikes, J Ouellette and B Rude. 2007. Determination of bamboo-diet digestibility and fecal output by giant pandas. *Ursus* 18 (1):38-45
- Soler L. 2009. Aspectos ecológicos y perspectivas de conservación del carnívoro *Chrysocyon brachyurus* en Argentina. Tesis de Magister en Biología. Universidad Nacional del Sur.
- Soler L y Casanave, EB. 2007. Hábitos alimenticios del Aguará guazú (*Chrysocyon brachyurus*) en Corrientes, Argentina. XXI Jornadas Argentinas de Mastozoología, Tafí del Valle, Tucumán. Libro de resúmenes, pg. 152.
- Sombra M and A Mangione. 2005. Obsessed with grasses? The case of mara *Dolichotis patagonum* (Caviidae: Rodentia). Revista Chilena de Historia Natural. 78: 401-408.
- Sunvold GD, GC Fahey Jr, NR Merchen, EC Titgemeyer, LD Bourquin, LL Bauer and GA Reinhart. 1995. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *Journal of Animal Science* 73: 1099-1109
- Tolleson WH, DR Doerge, MI Churchwell, MM Marques and Roberts DW. 2002. Metabolism of biochanin A and formononetin by human liver microsomes in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (17): 4783-4790.
- Varela O, A Cormenzana-Méndez, L Krapovickas and EH Bucher. 2008. Seasonal diet of the pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) in the Chaco dry woodland, northwestern Argentina. *Journal of Mammalogy*, 89(4):1012–1019.
- Walter RS, AJ Novaro, P Perovic, R Palacios, E Donadio, M Lucherini, M Pia and MS López. 2007. Diets of three species of andean carnivores in High-altitude deserts of Argentina. *Journal of Mammalogy* 88(2):519–525.
- Wilkinson L. 1997. SYSTAT for Windows: statistics. Version 7.0 edition. Systat, Chicago, Illinois, USA.

Bibliografía

- Williams JB, D Lenain, S Ostrowski, BI Tieleman and PJ Seddon. 2002. Energy Expenditure and Water Flux of Rüppell's Foxes in Saudi Arabia. *Physiological and Biochemical Zoology* 75(5): 479–488.
- Winstanley RK, WA Buttemer and G Saunders. 2003. Field metabolic rate and body water turnover of the red fox *Vulpes vulpes* in Australia. *Mammal Review* 33 (3): 295–301.
- Wynne-Edwards K. 2001. Hormonal Changes in Mammalian. *Hormones and Behavior* 40: 139–145.
- Yamada T, A Yamamoto, M Fujioka, M Miyagi, N Saito and I Imai. 1999. Characterization of urinary metabolites of a new benzafuroquiniline derivative 3,9-bis(N,N-dimethylcarbamoyloxy)-5Hbenzofuro [3,2-C]-quinoline-6-one (KCA-098), in dogs. *Pharmazie* 54: 672-677.
- Zhang Z, X Zhan, L Yan, M Li, J Hu and F Wei. 2009. What determines selection and abandonment of a foraging patch by wild giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) in winter? *Environmental Science and Pollution Research* 16: 79-84
- Zúñiga A, A Muñoz-Pedreras, A Fierro. 2008. Dieta de *Lycalopex griseus* (Gray, 1837) (Mammalia: Canidae) en la depresión intermedia del sur de Chile. *Gayana* 72(1): 113-116. Comunicación breve

72650

U.N.R.C.
Biblioteca Central



72650